

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA EN VIRTUD DEL TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de la Propiedad Intelectual
Oficina internacional



(10) Número de Publicación Internacional

WO 2010/130852 A1

PCT

(51) Clasificación Internacional de Patentes:
G21K 1/06 (2006.01) *G02B 21/32* (2006.01)
G01L 1/25 (2006.01)

(21) Número de la solicitud internacional:
PCT/ES2010/000210

(22) Fecha de presentación internacional:
14 de mayo de 2010 (14.05.2010)

(25) Idioma de presentación: español

(26) Idioma de publicación: español

(30) Datos relativos a la prioridad:
P200901259 15 de mayo de 2009 (15.05.2009) ES

(71) Solicitante (para todos los Estados designados salvo US): UNIVERSIDAD DE BARCELONA [ES/ES]; Centro de Patentes de la UB, Baldíri Reixac, 4, E-08028 Barcelona (ES).

(72) Inventores; e

(75) Inventores/Solicitantes (para US solamente): MONTES USATEGUI, Mario [ES/ES]; Entença 124, 2n 1a, E-08015 Barcelona (ES). FARRÉ FLAQUER, Arnaud [ES/ES]; Tordera 41, 1r 1a, E-08012 Barcelona (ES).

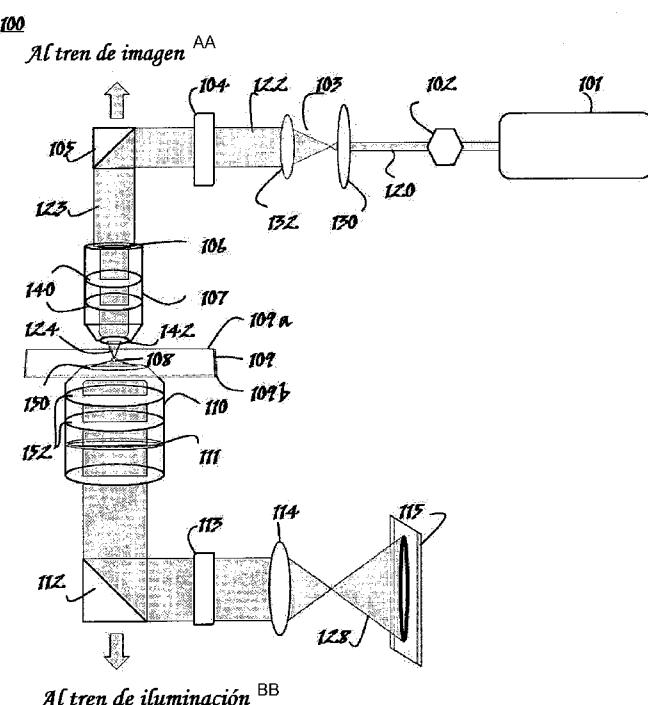
(74) Mandatario: SEGURA CÁMARA, Pascual; Centro de Patentes de la UB, Baldíri Reixac 4, E-08028 Barcelona (ES).

(81) Estados designados (a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección nacional admisible): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

[Continúa en la página siguiente]

(54) Title: METHOD AND APPARATUS FOR MEASURING THE OPTICAL FORCES ACTING ON A PARTICLE

(54) Título : MÉTODO Y APARATO DE MEDIDA DE LAS FUERZAS ÓPTICAS QUE ACTÚAN SOBRE UNA PARTÍCULA



Al tren de iluminación BB

AA To image train
BB To illumination train

Figura 1

(57) Abstract: Apparatus and method for measuring the optical forces acting on a trapped particle. In one embodiment, the apparatus and method can be adapted for insertion in the optical train of an optical microscope configured to trap, with a single light beam, a particle suspended in a suspension medium, between the entry face and exit face of a chamber placed on or in the microscope. The apparatus and methods involve the use of a single system of collector lenses, the latter having a numerical aperture that is greater than or equal to the refraction index of the suspension medium for suspending the particle in the chamber, and being located near or in contact with the exit face of the suspension chamber. A light sensor device is placed in or near the rear focal plane of the collector lens, or in an optical equivalent thereof, the latter being capable, directly or indirectly, of producing measurements of the optical force acting on the particle, said measurements being taken from the x and y coordinates of the centres of mass of the distribution of light projected on the light sensor device by the collector lens.

(57) Resumen:

[Continúa en la página siguiente]

WO 2010/130852 A1



- (84) **Estados designados** (*a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección regional admisible*):
ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europea (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publicada:

- *con informe de búsqueda internacional (Art. 21(3))*
- *antes de la expiración del plazo para modificar las reivindicaciones y para ser republicada si se reciben modificaciones (Regla 48.2(h))*

Aparato y método para medir las fuerzas ópticas que actúan sobre una partícula atrapada. En una realización, el aparato y método son adaptables para su inserción en el tren óptico de un microscopio óptico configurado para atrapar, con un único haz de luz, una partícula suspendida en un medio de suspensión, entre la cara de entrada y la cara de salida de una cámara dispuesta sobre o dentro del microscopio. El aparato y métodos implican la utilización de un único sistema de lentes colector, teniendo éste una apertura numérica seleccionada de modo que sea mayor o igual que el índice de refracción del medio de suspensión destinado a suspender la partícula en la cámara, y situándose cerca o en contacto con la cara de salida de la cámara de suspensión. Un dispositivo sensor de luz se coloca en o cerca del plano focal trasero de la lente colectora, o en un equivalente óptico del mismo, siendo éste capaz, directa o indirectamente, de producir medidas de la fuerza óptica que actúa sobre la partícula, derivadas de las coordenadas x e y del centro de masas de la distribución de luz proyectada sobre el dispositivo sensor de luz por la lente colectora.

Método y aparato de medida de las fuerzas ópticas que actúan sobre una partícula

La invención se refiere a un sistema y a métodos para medir las fuerzas
5 ópticas que actúan sobre una muestra microscópica y, más particularmente,
a un sistema y métodos para determinar las componentes transversales de la
fuerza que actúa sobre una partícula atrapada en un montaje de pinzas
ópticas.

10 ESTADO DE LA TÉCNICA ANTERIOR

Existen fundamentalmente dos metodologías en el estado de la técnica para
medir las fuerzas ópticas que actúan sobre una muestra microscópica
atrapada por una pinza óptica, la "indirecta" y la forma "directa". Los métodos
15 indirectos tienen en común, por lo general, el uso de un único haz de láser y
precisan de una modelización matemática compleja tanto de la trampa
(potencial armónico) como de su entorno (flujo de índice de refracción y
viscosidad homogéneas, en condiciones de bajo número de Reynolds) para
determinar las fuerzas que actúan sobre dichas muestras microscópicas.
20 Además, éstas deben ser de forma esférica necesariamente para que los
modelos sean adecuados.

El método de medida indirecta de fuerzas sobre una muestra atrapada se
describe en K. Svoboda y S. M. Block, "Biological Applications of Optical
25 Forces", Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure, Vol. 23,
pp. 247-285 (1994) y en la bibliografía que contiene, y también en la patente
de los Estados Unidos de J. Finer, R. Simmons, J. Spudich y S. Chu, "Optical
trap system and method", Patente de los Estados Unidos núm. 5,512,745
(1996). Además, la teoría que explica el método de medida se encuentra en
30 F. Gittes y C. F. Schmidt, "Interference model for back-focal-plane
displacement detection in optical tweezers", Optics Letters, Vol. 23, pp. 7-9
(1998) y, finalmente, un procedimiento de calibración para determinar la
constante elástica de la trampa se detalla en K. Berg-Sørensen y H.
Flyvbjerg, "Power spectrum analysis for optical tweezers", Review of Scientific
35 Instruments Vol. 75, pp. 594-612 (2004).

Los sistemas “indirectos”, de haz único, presentan numerosas deficiencias. Por ejemplo, las medidas dependen de múltiples variables experimentales que cambian de experimento en experimento (p. ej. de la temperatura, índice de refracción relativo entre muestra y medio, tamaño de la muestra, potencia del láser, apertura numérica del objetivo, etc.). En la práctica, es necesario recalibrar estos sistemas cada vez que se utilizan, a través de un procedimiento complejo que precisa de un equipo especializado (actuadores piezoeléctricos) y conocimiento experto, lo que los hace poco prácticos para su uso comercial. Además, existen problemas adicionales en los métodos “indirectos” asociados a las trampas de haz único. En primer lugar, como se ha mencionado, no es posible medir fuerzas sobre muestras que no sean perfectamente esféricas. En caso de objetos irregulares se han de utilizar microesferas que se fijan a las muestras por algún medio y que se utilizan como asas. Además, no es posible hacer medidas con haces láser que no sean gaussianos porque, en general, no producen potenciales armónicos. Esto deja fuera a haces con características interesantes tales como los potenciales periódicos que se utilizan en fraccionamiento óptico (“optical sorting”) o a los haces de Bessel o Laguerre-Gauss, capaces de inducir rotaciones. Finalmente, no es posible hacer medidas en medios inhomogéneos, lo que limita los experimentos posibles fundamentalmente a aquellos realizados *in vitro*. Un ejemplo importante son los experimentos con pinzas ópticas en problemas biológicos que se deban realizar en el interior celular, y que no son actualmente posibles, debido a que las propiedades ópticas del citosol cambian punto a punto. La célula ha de ser recreada de manera simplificada, biomimética. De hecho, parte importante del mérito y del alcance de un experimento con pinzas ópticas en el dominio celular consiste en la habilidad para sortear la dificultad de hacer experimentos “*in vivo*”.

La segunda posibilidad es utilizar un método “directo”. Los precedentes de 30 métodos “directos” para medir fuerzas ópticas sobre muestras atrapadas requieren el uso de dos haces láser enfrentados contra-propagantes. Este método se detalla en la patente de los Estados Unidos número 7,133,132 (Bustamante y otros) y en dos artículos precedentes titulados “Overstretching B-DNA: The Elastic Response of Individual Double-Stranded and Single- 35 Stranded DNA Molecules”, Science, Vol. 271, pp. 795-799 (1996) y “Optical-Trap Force Transducer That Operates by Direct Measurement of Light Momentum”, Methods of Enzymology, Vol. 361, pp.134-162 (2003), de S.

Smith y otros. El método ha sido también descrito por Grange y otros en el artículo titulado "Optical tweezers system measuring the change in light momentum flux", Review of Scientific Instruments, Vol. 23, No. 6, pp. 2308-2316 (2002) y en la tesis doctoral de S. Smith "Stretch Transitions Observed in Single Biopolymer Molecules (DNA or Protein) using Laser Tweezers", University of Twente, Holanda (1998).

Los precedentes de métodos "directos" de medida de las fuerzas ópticas que actúan en una partícula atrapada se basan en la medida de los cambios de momento. En el estado de la técnica, las trampas requeridas están construidas en base a haces duales contra-propagantes, lo que demanda montajes ópticos duplicados y específicos (dos láseres, dos expansores de haz, dos objetivos de microscopio, dos detectores de posición, etc.) y lo que imposibilita su integración en los trenes ópticos de microscopios comerciales y sistemas de pinzas ópticas disponibles actualmente.

Además, el uso de componentes ópticos duplicados hace que estos sistemas sean caros y más difíciles de ajustar, mantener y operar. Un elemento importante en la situación descrita es la opinión generalizada de los expertos en el campo que sostiene que el método de medida de fuerzas "directo" no es compatible con el uso de trampas de haz único. Bustamante y coautores así lo proclaman en la página 140 del artículo titulado "Optical-Trap Force Transducer That Operates by Direct Measurement of Light Momentum" discutido anteriormente. Neuman y coautores declaran lo mismo en la página 2802 del artículo "Optical trapping (review article)", Review of Scientific Instruments, 75, 2787-2809 (2004). Williams opina lo mismo en la página 5 de la tesis titulada "Optical Tweezers: Measuring Piconewton Forces". También, Grange y coautores en el artículo titulado "Optical tweezers system measuring the change in light momentum flux" observa lo mismo en la página 2308 y S. Smith en su tesis doctoral "Stretch Transitions Observed in Single Biopolymer Molecules (DNA or Protein) using Laser Tweezers" es de la misma opinión en la página 17.

Esta opinión negativa de los expertos en el campo se debe a que creen necesario, para el método directo, el uso de haces láser constituidos por un cono de luz estrecho, dado que este haz ha de ser capturado en su totalidad (para su análisis) por una lente colectora. Considerando que el haz de luz

sufre importantes deflexiones al atravesar la muestra, en su opinión, si se utilizara un haz de alta apertura numérica, los rayos de luz más externos escaparían de la lente colectora, produciendo errores en la medida.

Por otro lado, un único haz formado por un cono de luz estrecho, de baja

5 apertura numérica, sería incapaz de atrapar objetos debido a que la fuerza de dispersión asociada a la luz que se refleja sería mayor que la fuerza de gradiente transversal o fuerza de atrapamiento. La solución que dan a este dilema es emplear un diseño de haces contrapropagantes para crear la trampa, aunque al coste de una mayor complejidad experimental.

10

Se precisa, por tanto, un sistema y método simplificado para medir fuerzas ópticas que actúen sobre muestras atrapadas, que dé solución a los problemas anteriormente mencionados.

15 EXPLICACIÓN DE LA INVENCIÓN

Según un aspecto de la presente invención se proporciona un sistema que incluye una fuente de luz para la generación de un único haz de luz, una cámara para contener una partícula en un medio de suspensión, una lente 20 objetivo de atrapamiento para focalizar el haz de luz sobre la partícula de tal manera que se consiga que los fotones del haz de luz atrapen la partícula mediante el uso de fuerzas de gradiente elevadas, una lente o sistema de lentes colectoras única posicionada para capturar tanto los fotones deflectados como no deflectados por la partícula; y un dispositivo sensor de 25 luz posicionado en o cerca del plano focal trasero de la lente colectora, o de un equivalente óptico del mismo.

Según otro aspecto de la presente invención se proporciona un sistema que incluye una fuente de luz para la generación de un único haz de luz, una

30 cámara para contener una partícula en un medio de suspensión, una lente objetivo de atrapamiento de alta apertura numérica para focalizar el haz de luz sobre la partícula de tal manera que se consiga que los fotones del haz de luz atrapen la partícula mediante el uso de fuerzas de gradiente elevadas, una lente o sistema de lentes colectoras única posicionada para capturar, en 35 la semiesfera superior de la partícula que se atrapa, tanto los fotones deflectados como no deflectados por la partícula, teniendo la citada lente colectora una apertura numérica mayor o igual que el índice de refracción del

medio de suspensión destinado a suspender la partícula en la cámara; y un dispositivo sensor de luz posicionado en o cerca del plano focal trasero de la lente colectora, o de un equivalente óptico del mismo.

- 5 Según otro aspecto de la presente invención se proporciona un método para medir las fuerzas ópticas que actúan sobre una partícula, que comprende la suspensión de la partícula en un medio de suspensión dentro de una cámara, la focalización de un único haz de luz sobre la partícula de tal manera que se consiga que los fotones del haz de luz atrapen la partícula mediante el uso de
10 fuerzas de gradiente elevadas, la recogida tanto de los fotones deflectados como no deflectados por la partícula por una única lente o sistema de lentes colectoras, mediante el control de la distancia de la partícula con respecto a la lente colectora y mediante el control de la refracción de los fotones que abandonan la cámara; y la redirección de los fotones recogidos hacia un
15 dispositivo sensor de luz localizado en o cerca del plano focal trasero de la lente colectora, o de un equivalente óptico del mismo.

Según otro aspecto, se proporciona un sistema adaptable para su inserción en el tren óptico de un microscopio óptico, configurado para atrapar con un
20 único haz de luz una partícula suspendida en un medio de suspensión entre la cara de entrada y la cara de salida de una cámara, comprendiendo el sistema una única lente o sistema de lentes colectoras que se emplaza en o cerca de la cara de salida de la cámara de suspensión, siendo la apertura numérica de la lente colectora mayor o igual que el índice de refracción del
25 medio de suspensión destinado a suspender la partícula en la cámara, un dispositivo sensor de luz posicionado en o cerca del plano focal trasero de la lente colectora, o de un equivalente óptico del mismo, siendo el dispositivo sensor capaz, directa o indirectamente, de producir medidas de la fuerza óptica que actúa sobre la partícula, derivadas de las coordenadas x e y del
30 centro de masas de la distribución de luz proyectada sobre el dispositivo sensor de luz. En una realización, la lente colectora y el dispositivo sensor de luz están integrados en un único dispositivo.

Según otro aspecto, se proporciona un sistema adaptable para su inserción
35 en el tren óptico de un microscopio óptico, configurado para atrapar con un único haz de luz una partícula suspendida en un medio de suspensión entre la cara de entrada y la cara de salida de una cámara, comprendiendo el

sistema una única lente o sistema de lentes colectoras que se emplaza en o cerca de la cara de salida de la cámara de suspensión para recoger, en la semiesfera superior de la partícula, tanto los fotones deflectados como no deflectados por la partícula, estando la apertura numérica de la lente

5 colectora seleccionada de manera que sea mayor o igual que el índice de refracción del medio de suspensión destinado a suspender la partícula en la cámara, un dispositivo sensor de luz posicionado en o cerca de un equivalente óptico del plano focal trasero de la lente colectora, siendo el dispositivo sensor de luz capaz, directa o indirectamente, de producir

10 medidas de la fuerza óptica que actúa sobre la partícula, derivadas de las coordenadas x e y del centro de masas de la distribución de luz proyectada sobre el dispositivo sensor de luz; y una lente auxiliar o de relé, posicionada entre la lente colectora y el dispositivo sensor de luz para crear el equivalente óptico del plano focal trasero. En una realización, la lente colectora, la lente

15 de relé y el dispositivo sensor de luz están integrados en un único dispositivo.

Según otro aspecto, se proporciona un sistema adaptable para su inserción en el tren óptico de un microscopio óptico, configurado para atrapar con un único haz de luz una partícula suspendida en un medio de suspensión entre

20 la cara de entrada y la cara de salida de una cámara, comprendiendo el sistema una única lente o sistema de lentes colectoras que se emplaza en o cerca de la cara de salida de la cámara de suspensión para recoger, en la semiesfera superior de la partícula, tanto los fotones deflectados como no deflectados por la partícula, estando la apertura numérica de la lente

25 colectora seleccionada de manera que sea mayor o igual que el índice de refracción del medio de suspensión destinado a suspender la partícula en la cámara, un dispositivo sensor de luz posicionado en o cerca de un equivalente óptico del plano focal trasero de la lente colectora, siendo el dispositivo sensor de luz capaz, directa o indirectamente, de producir

30 medidas de la fuerza óptica que actúa sobre la partícula, derivadas de las coordenadas x e y del centro de masas de la distribución de luz proyectada sobre el dispositivo sensor de luz, una lente auxiliar o de relé, posicionada entre la lente colectora y el dispositivo sensor de luz para crear el equivalente óptico del plano focal trasero; y un filtro posicionado entre la lente colectora y

35 el dispositivo sensor de luz para prevenir la saturación del dispositivo sensor de luz. En una realización, la lente colectora, la lente de relé, el filtro y el dispositivo sensor de luz están integrados en un único dispositivo.

Según otro aspecto, se proporciona un sistema adaptable para su inserción en el tren óptico de un microscopio óptico, configurado para atrapar con un único haz de luz una partícula suspendida en un medio de suspensión entre la cara de entrada y la cara de salida de una cámara, comprendiendo el sistema una única lente o sistema de lentes colectoras que se emplaza en o cerca de la cara de salida de la cámara de suspensión para recoger, en la semiesfera superior de la partícula, tanto los fotones deflectados como no deflectados por la partícula, estando la apertura numérica de la lente colectora seleccionada de manera que sea mayor o igual que el índice de refracción del medio de suspensión destinado a suspender la partícula en la cámara, un dispositivo sensor de luz posicionado en o cerca de un equivalente óptico del plano focal trasero de la lente colectora, siendo el dispositivo sensor de luz capaz, directa o indirectamente, de producir medidas de la fuerza óptica que actúa sobre la partícula, derivadas de las coordenadas x e y del centro de masas de la distribución de luz proyectada sobre el dispositivo sensor de luz, una lente auxiliar o de relé, posicionada entre la lente colectora y el dispositivo sensor de luz para crear el equivalente óptico del plano focal trasero; y una máscara que actuando por transmisión y posicionada cerca o pegada al dispositivo sensor de luz, compensa las pérdidas por reflexión producidas en la cámara. En una realización, la lente colectora, la lente de relé, la máscara y el dispositivo sensor de luz están integrados en un único dispositivo.

Según otro aspecto, se proporciona un sistema adaptable para su inserción en el tren óptico de un microscopio óptico, configurado para atrapar con un único haz de luz una partícula suspendida en un medio de suspensión entre la cara de entrada y la cara de salida de una cámara, comprendiendo el sistema una única lente o sistema de lentes colectora que se emplaza en o cerca de la cara de salida de la cámara de suspensión para recoger, en la semiesfera superior de la partícula, tanto los fotones deflectados como no deflectados por la partícula, estando la apertura numérica de la lente colectora seleccionada de manera que sea mayor o igual que el índice de refracción del medio de suspensión destinado a suspender la partícula en la cámara, un dispositivo sensor de luz posicionado en o cerca de un equivalente óptico del plano focal trasero de la lente colectora, siendo el dispositivo sensor de luz capaz, directa o indirectamente, de producir

medidas de la fuerza óptica que actúa sobre la partícula, derivadas de las coordenadas x e y del centro de masas de la distribución de luz proyectada sobre el dispositivo sensor de luz, una lente auxiliar o de relé, posicionada entre la lente colectora y el dispositivo sensor de luz para crear el equivalente óptico del plano focal trasero, un filtro posicionado entre la lente colectora y el dispositivo sensor de luz para prevenir la saturación del dispositivo sensor de luz; y una máscara que actuando por transmisión y posicionada cerca o pegada al dispositivo sensor de luz, compensa las pérdidas por reflexión producidas en la cámara. En una realización, la lente colectora, la lente de relé, el filtro, la máscara y el dispositivo sensor de luz están integrados en un único dispositivo.

Según otro aspecto, se proporciona un sistema adaptable para su inserción en el tren óptico de un microscopio óptico, configurado para atrapar con un único haz de luz una partícula suspendida en un medio de suspensión entre la cara de entrada y la cara de salida de una cámara, comprendiendo el sistema una única lente o sistema de lentes colectoras que se emplaza en o cerca de la cara de salida de la cámara de suspensión para recoger, en la semiesfera superior de la partícula, tanto los fotones deflectados como no deflectados por la partícula, estando la apertura numérica de la lente colectora seleccionada de manera que sea mayor o igual que el índice de refracción del medio de suspensión destinado a suspender la partícula en la cámara, un dispositivo sensor de luz posicionado en o cerca del plano focal trasero de la lente colectora, siendo el dispositivo sensor de luz capaz, directa o indirectamente, de producir medidas de la fuerza óptica que actúa sobre la partícula, derivadas de las coordenadas x e y del centro de masas de la distribución de luz proyectada sobre el dispositivo sensor de luz; y un filtro posicionado entre la lente colectora y el dispositivo sensor de luz para prevenir la saturación del dispositivo sensor de luz. En una realización, la lente colectora, el filtro y el dispositivo sensor de luz están integrados en un único dispositivo.

Según otro aspecto, se proporciona un sistema adaptable para su inserción en el tren óptico de un microscopio óptico, configurado para atrapar con un único haz de luz una partícula suspendida en un medio de suspensión entre la cara de entrada y la cara de salida de una cámara, comprendiendo el sistema una única lente o sistema de lentes colectoras que se emplaza en o

cerca de la cara de salida de la cámara de suspensión para recoger, en la semiesfera superior de la partícula, tanto los fotones deflectados como no deflectados por la partícula, estando la apertura numérica de la lente colectora seleccionada de manera que sea mayor o igual que el índice de refracción del medio de suspensión destinado a suspender la partícula en la cámara, un dispositivo sensor de luz posicionado en o cerca del plano focal trasero de la lente colectora, siendo el dispositivo sensor de luz capaz, directa o indirectamente, de producir medidas de la fuerza óptica que actúa sobre la partícula, derivadas de las coordenadas x e y del centro de masas de la distribución de luz proyectada sobre el dispositivo sensor de luz; y una máscara que actuando por transmisión y posicionada cerca o pegada al dispositivo sensor de luz, compensa las pérdidas por reflexión producidas en la cámara. En una realización, la lente colectora, la máscara y el dispositivo sensor de luz están integrados en un único dispositivo.

Según otro aspecto, se proporciona un sistema adaptable para su inserción en el tren óptico de un microscopio óptico, configurado para atrapar con un único haz de luz una partícula suspendida en un medio de suspensión entre la cara de entrada y la cara de salida de una cámara, comprendiendo el sistema una única lente o sistema de lentes colectoras que se emplaza en o cerca de la cara de salida de la cámara de suspensión para recoger, en la semiesfera superior de la partícula, tanto los fotones deflectados como no deflectados por la partícula, estando la apertura numérica de la lente colectora seleccionada de manera que sea mayor o igual que el índice de refracción del medio de suspensión destinado a suspender la partícula en la cámara, un dispositivo sensor de luz posicionado en o cerca del plano focal trasero de la lente colectora, siendo el dispositivo sensor de luz capaz, directa o indirectamente, de producir medidas de la fuerza óptica que actúa sobre la partícula, derivadas de las coordenadas x e y del centro de masas de la distribución de luz proyectada sobre el dispositivo sensor de luz, un filtro posicionado entre la lente colectora y el dispositivo sensor de luz para prevenir la saturación del dispositivo sensor de luz; y una máscara que actuando por transmisión y posicionada cerca o pegada al dispositivo sensor de luz, compensa las pérdidas por reflexión producidas en la cámara. En una realización, la lente colectora, el filtro, la máscara y el dispositivo sensor de luz están integrados en un único dispositivo.

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra "comprende" y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos.

- 5 Para los expertos en la materia, otros objetos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención. Los siguientes ejemplos y dibujos se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención. Además, la presente invención cubre todas las posibles combinaciones de realizaciones particulares y preferidas aquí indicadas.
- 10

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La Figura 1 ilustra un sistema, en una de las realizaciones de la presente invención, para atrapar una partícula y medir las fuerzas ópticas que actúan en la partícula atrapada.

La Figura 2 ilustra la obtención de la estructura de momentos de una distribución coherente de luz en el plano focal trasero de una lente.

20 Las Figuras 3A y 3B constituyen ejemplos de rayos de luz convergentes que son refractados y reflejados por la muestra atrapada.

25 La Figura 4 es un gráfico de la intensidad de luz dispersada en función del ángulo por una microesfera de vidrio homogénea suspendida en agua.

La Figura 5 ilustra un sistema colector de luz en una realización de la presente invención.

30 La Figura 6 es un gráfico que muestra la fracción porcentual de luz capturada en la semiesfera superior de una muestra en función de la posición de la muestra en el interior de la cámara de suspensión.

35 La Figura 7 muestra una imagen del plano focal trasero de un condensador de microscopía, de inmersión en aceite, capturando la luz de la semiesfera superior de una partícula atrapada, según los principios de la presente invención.

La Figura 8 muestra los resultados de un experimento de medida en el que fuerzas conocidas son aplicadas sobre microesferas de poliestireno de diámetros e índices de refracción distintos y a potencias de láser y con

- 5 objetivos de microscopio distintos para crear la trampa óptica.

Las Figuras 9A y 9B ilustran una realización de la presente invención que se integra en un microscopio óptico.

- 10 La Figura 10 ilustra un sistema/dispositivo en una realización adaptable para su inserción en el tren óptico de un microscopio óptico, que permite la medida de las fuerzas ópticas que actúan sobre una partícula atrapada suspendida en un medio dentro de una cámara de suspensión.
- 15 La Figura 11 ilustra un sistema/dispositivo en otra realización adaptable para su inserción en el tren óptico de un microscopio óptico, que permite la medida de las fuerzas ópticas que actúan sobre una partícula atrapada suspendida en un medio dentro de una cámara de suspensión.
- 20 La Figura 12 ilustra un sistema/dispositivo en otra realización adicional adaptable para su inserción en el tren óptico de un microscopio óptico, que permite la medida de las fuerzas ópticas que actúan sobre una partícula atrapada suspendida en un medio dentro de una cámara de suspensión.
- 25 La Figura 13 ilustra un sistema/dispositivo en una realización adaptable para su inserción en el tren óptico de un microscopio óptico, que permite la medida de las fuerzas ópticas que actúan sobre una partícula atrapada suspendida en un medio dentro de una cámara de suspensión.
- 30 La Figura 14 ilustra un sistema/dispositivo en otra realización adaptable para su inserción en el tren óptico de un microscopio óptico, que permite la medida de las fuerzas ópticas que actúan sobre una partícula atrapada suspendida en un medio dentro de una cámara de suspensión.
- 35 La Figura 15 ilustra un sistema/dispositivo en otra realización adicional adaptable para su inserción en el tren óptico de un microscopio óptico, que

permite la medida de las fuerzas ópticas que actúan sobre una partícula atrapada suspendida en un medio dentro de una cámara de suspensión.

EXPOSICIÓN DETALLADA DE MODOS DE REALIZACIÓN

5

En la descripción siguiente se establecen numerosos detalles específicos a fin de facilitar la comprensión exhaustiva de la presente invención. Será aparente, sin embargo, para aquellos versados en la materia, que la presente invención puede ser practicada sin alguno o sin la totalidad de estos detalles 10 específicos. Por el contrario, en otros casos, procesos y operaciones bien conocidos han sido tratados sin mayor detalle a fin de no oscurecer de forma innecesaria las descripciones de la presente invención. Además, es importante señalar que las figuras que acompañan al texto no están confeccionadas a escala.

15

La Figura 1 ilustra un sistema 100 para medir las fuerzas ópticas que actúan sobre una partícula 108 según una implementación de la presente invención. El sistema 100 incluye una cámara 109 para suspender una partícula 108 en un fluido de suspensión, entre una cara de entrada 109a y una cara de 20 salida 109b de una cámara, fabricadas típicamente de vidrio. El atrapamiento de la partícula 108 se consigue focalizando un haz de luz 124 sobre la partícula suspendida mediante el uso de una lente objetivo de atrapamiento 107 de alta apertura numérica y típicamente de inmersión, de tal manera que se consiga que los fotones del haz de luz atrapen la partícula mediante el uso 25 de fuerzas de gradiente elevadas. En la realización de la Figura 1, una fuente láser 101 crea un haz de láser 120 que puede ser manipulado de modo tal que forme el haz de luz de la trampa 124. La fuente láser 101 es preferiblemente una fuente láser de alta potencia que tenga una potencia estimada de entre algunos cientos de milivatios hasta varios vatios. Se puede colocar un aislador de Faraday 102 a la salida de la fuente láser 101 para 30 evitar que las retro-reflexiones penetren de nuevo en la cavidad láser 101, causando fluctuaciones de potencia. Un telescopio 103, compuesto por una lente ocular 130 y una lente objetivo 132, insertado en el camino del haz de láser 120 lo expande y recolina. En una realización preferida, la distancia focal de las lentes 132 y 130 se selecciona de modo que se obtenga un haz láser 122 cuyo diámetro cubra exactamente o rebase ligeramente la pupila de 35 entrada 106 del objetivo de atrapamiento 107. En caso de que el haz láser

122 tenga una polarización lineal, o cualesquiera otra que no sea circular, una lámina de cuarto de onda 104, u otro dispositivo apropiado, puede situarse entre el objetivo del telescopio 132 y la lente objetivo que crea la trampa 107 para obtener un haz de luz 123 que tenga polarización circular o sustancialmente circular. Un haz de luz que entre en el objetivo de atrapamiento 107 con polarización circular, o sustancialmente circular, permite al objetivo formar una trampa óptica con constante elásticas radiales iguales, o sustancialmente iguales, en dos direcciones perpendiculares.

10 Como se ha mencionado anteriormente, el sistema 100 hace uso de un único haz de luz 124 para atrapar la partícula 108 mediante el uso de fuerzas de gradiente elevadas. Para obtener las altas fuerzas de gradiente necesarias para atrapar la partícula de manera efectiva, se emplea un objetivo de atrapamiento 107 de alta apertura numérica, que focaliza el haz hasta un punto de dimensiones difraccionales sobre la partícula. El objetivo de atrapamiento 107 generalmente incluye una pupila de entrada 106, una serie de lentes internas 140 y una lente de salida 142, ésta en contacto generalmente con la cara de entrada 109a de una cámara 109, a través de un medio de inmersión (que no se muestra), tal como el agua o el aceite de inmersión, preferiblemente aceite. En realizaciones alternativas, la apertura numérica del objetivo de atrapamiento 107 preferiblemente varía entre aproximadamente 0.90 y aproximadamente 1.40. Para conseguir cubrir exactamente o rebasar ligeramente el diámetro de la pupila de entrada 106, el aumento del telescopio 103 preferiblemente varía entre aproximadamente 2.5X y aproximadamente 6X.

La medida de las fuerzas ópticas que actúan sobre la partícula 108 se consigue recogiendo tanto los fotones deflectados como no deflectados por la partícula empleando una lente de inmersión de alta apertura numérica 110, que tenga una apertura numérica mayor o igual que el índice de refracción del medio de suspensión destinado a suspender la partícula 108 en la cámara 109. La lente colectora 110 generalmente incluye una lente frontal 150 y una serie de lentes internas 152 que coliman y dirigen los fotones recogidos hacia un dispositivo sensor de luz 115. La lente frontal 150 está en contacto con la cara de salida 109b de la cámara 109 mediante un medio de inmersión (que no se muestra) tal como el agua o el aceite de inmersión, preferiblemente aceite. En realizaciones alternativas, la apertura numérica de

la lente colectora 110 preferiblemente varía entre aproximadamente 1.32 y aproximadamente 1.40. En particular, es conveniente que exista una diferencia relativamente grande entre el índice de refracción del medio de suspensión de la partícula y el del líquido de inmersión de la lente colectora.

- 5 En realizaciones alternativas, la relación entre los índices de refracción del medio de inmersión y del medio de suspensión varía entre aproximadamente 1.13 y aproximadamente 1.2, y el diámetro de la lente frontal 150 varía entre aproximadamente 2 milímetros y aproximadamente 20 milímetros.
- 10 La medida directa de las fuerzas ópticas que actúan sobre la partícula 108 es posible debido a que la estructura de momentos de una distribución luminosa se hace visible en el plano focal trasero 111 de una lente colectora 110. La teoría subyacente a este fenómeno se explica en virtud de la Figura 2 y de la descripción que sigue.

15

Cualquier solución $U(x,y,z)$ de la ecuación de onda de Helmholtz puede escribirse como:

$$U(x, y, z) = \iint_{-\infty}^{\infty} A e^{i\vec{k}\cdot\vec{r}} d\alpha d\beta = \iint_{-\infty}^{\infty} A(\alpha, \beta) e^{i\frac{2\pi}{\lambda}(zx + \beta y + \gamma z)} d\alpha d\beta \quad (1)$$

20

donde los pesos $A(\alpha, \beta)$ cumplen:

$$A(\alpha, \beta) = \iint_{-\infty}^{\infty} U(x, y, 0) e^{-i\frac{2\pi}{\lambda}(zx + \beta y)} dx dy \quad (2)$$

25

es decir, son la transformada de Fourier del campo original en un plano arbitrario $z = 0$.

Estas ecuaciones tienen interpretación física: cualquier campo

- 30 electromagnético puede pensarse como una superposición de ondas planas, $A e^{i\vec{k}\cdot\vec{r}}$, con amplitudes A dadas por la Ecuación 2. Las ondas planas son el tipo de onda más simple, ya que cada una de ellas está formada por fotones que viajan en una misma dirección, la dada por los cosenos directores $\mathbf{s} = (\alpha, \beta, \gamma)$. Notoriamente relevante para nuestro método es el hecho de que el momento en una onda plana está determinado por:

$$\vec{p} = \hbar \vec{k} \Rightarrow (p_x, p_y, p_z) = \hbar \frac{2\pi}{\lambda} (\alpha, \beta, \gamma) \quad (3)$$

O en otras palabras, una onda plana está compuesta por fotones que tienen el mismo momento p , y la Ecuación 1 anterior puede entonces pensarse como la descomposición de una determinada distribución luminosa en sus

5. momentos constituyentes. Además, la energía por unidad de tiempo (y unidad de superficie) transportada por estas ondas planas es proporcional a las amplitudes $A(\alpha, \beta)$ al cuadrado (la irradiancia $I(\alpha, \beta)$) según el teorema de Poynting. Por tanto, las tres ecuaciones anteriores muestran que el número de fotones (proporcional a la energía) por unidad de tiempo que en la

10. distribución $U(x,y,z)$ tienen momento p , es proporcional al modulo al cuadrado de la transformada de Fourier de la distribución. Es importante resaltar que, bajo iluminación coherente y descartando factores de fase y de escala irrelevantes, la distribución de luz en el plano focal trasero de una lente corresponde a la transformada de Fourier del campo antes de la lente. Esta

15. capacidad de las lentes para producir transformadas de Fourier es válida incluso a altas aperturas numéricas, si estas lentes se diseñan para cumplir la condición del seno de Abbe ($r = f' \sin T$, en la Figura 2), una corrección de aberraciones, por otro lado, ampliamente utilizada y fácilmente obtenible.

20. En referencia a la Figura 2, en el plano focal trasero 202 de la lente 200 podemos ver la estructura de momentos de la distribución de luz coherente del plano 201, es decir, la potencia radiante en el punto 203 del plano focal indica directamente el número de fotones que tienen momento p_1 . Dado que la estructura de momentos de la distribución luminosa se hace visible en el

25. plano focal trasero de una lente, cualquier cambio en esta estructura de momentos es fácilmente detectable. Esto proporciona un método directo para evaluar la fuerza ejercida por el haz de luz sobre una partícula. En efecto, la segunda ley de Newton identifica la fuerza ejercida sobre un cuerpo con su cambio de momento neto por unidad de tiempo. Además, la fuerza ejercida

30. por los fotones sobre la muestra tiene la misma magnitud que la ejercida por la muestra sobre los fotones (tercera ley de Newton), y es por tanto, igual al cambio de momento de los fotones del haz de luz, que es fácilmente visible en el plano focal trasero como se ha comentado. La diferencia entre los momentos antes y después de que la luz atraviese la muestra proporcionaría el cambio requerido por la segunda ley de Newton.

35.

considerando ahora la Figura 3A, se muestra un haz de luz convergente 301 que incide sobre una micropartícula 305 con el fin de atraparla ópticamente. En la Figura 3A, la micropartícula 305 aparece centrada con respecto al foco del haz 301. Describiendo la interacción en términos de óptica de rayos, la luz 5 puede refractarse 302 o reflejarse 303, resultando en cambios direccionales de la propagación. Estos cambios de dirección pueden incrementarse cuando la muestra se desplaza lateralmente con respecto al haz convergente de luz 301, como se ilustra en la Figura 3B. Como se aprecia, un desplazamiento lateral de la muestra puede ocasionar que los rayos refractados 302 y los 10 reflejados 303 se propaguen prácticamente en cualquier dirección. Como consecuencia, para ser capaz de analizar todos los cambios de momento del haz de luz, sería preciso recoger fotones en todos los puntos de una superficie que rodeara a la muestra, es decir, cubriendo un ángulo sólido de 4π estereoradianes. Sin embargo, los inventores han determinado que el 15 descarte de la luz retrodispersada generalmente da lugar a un error pequeño y, por tanto, aceptable. Como ilustración, la Figura 4 muestra un gráfico de la intensidad de la luz dispersada (en unidades arbitrarias y escala logarítmica) en función del ángulo, para una microesfera de vidrio homogénea ($r=1\text{ }\mu\text{m}$, $n=1.56$) suspendida en agua ($n=1.32$), atrapada en un haz de láser infrarrojo 20 focalizado ($\lambda=1.064\text{ }\mu\text{m}$, $\text{NA}=1$), calculado mediante la rigurosa teoría de Lorenz-Mie. Como se pone de manifiesto en la figura, la luz dispersada en la semiesfera inferior de la muestra equivale a menos de un 1% de la intensidad total de luz. La presente invención saca partido de este fenómeno al 25 determinar las fuerzas ópticas que actúan sobre la muestra, maximizando la cantidad de luz recogida dentro de la semiesfera superior de la muestra e ignorando la luz retro-dispersada. La recogida de luz en la semiesfera superior se maximiza mediante el uso de una lente colectora 110 de inmersión de alta apertura numérica, tal y como se ha descrito anteriormente. Este modo de proceder proporciona numerosas ventajas y permite un 30 montaje óptico de recogida de luz mucho más sencillo. Debe reseñarse que, en particular, este método posibilita que los sistemas y/o dispositivos de la presente invención sean incorporados o adaptados a los trenes ópticos de microscopios ópticos convencionales, y a los sistemas de trampas ópticas existentes.

35

En referencia a la Figura 5, y a modo de ejemplo, se ilustra un sistema colector en concordancia con una realización de la presente invención. Como

se ha descrito anteriormente, la muestra 108 se halla dentro de una cámara 109 que contiene además un medio de suspensión 406, por ejemplo agua ($n=1.333$), formada por una cara de entrada 109a y una cara de salida 109b. La lente frontal 150 del sistema colector 110 está en contacto con un fluido 5 de alto índice de refracción 407, tal como aceite de cedro o sintético para microscopía ($n'=1.515$), el cual, en una realización preferida, tiene el mismo índice de refracción que la cara de salida 109b y que la lente frontal 150. Como se indica, la luz que tras ser deflectada por la muestra 108 se propaga en la dirección de la lente colectora 110 formando un ángulo grande a 10 (semiángulo ϵ) con respecto al eje óptico, se refractará en la interfase agua-cara de salida 109b de acuerdo con la ley de Snell:

$$n \cdot \sin \epsilon = n' \cdot \sin \epsilon' \quad (4)$$

15 y entrará sin más cambio de dirección en la lente frontal 150 de la lente colectora 110 formando un ángulo menor β (semiángulo ϵ'). Dado que la apertura numérica de la lente colectora 110 se ha seleccionado de manera que sea mayor o igual que el índice de refracción n del medio de suspensión 406, el ángulo de refracción ϵ' será:

20 $n \cdot \sin 90^\circ = n = n' \sin \epsilon' \leq NA = n' \sin \theta \Rightarrow \epsilon' \leq \theta \quad (5)$

O, en otras palabras, los rayos refractados permanecen dentro del ángulo de captura θ de la lente colectora.

25 Para aprovechar completamente la apertura numérica de la lente colectora, la distancia de trabajo w entre la cara de salida 109b de la cámara 109 y la lente frontal 150 del sistema de lentes colector 110 ha de estar controlada. En una realización, un espaciador (que no se muestra) se coloca entre la 30 cara de salida 109b y la lente colectora 110 para mantener la distancia de trabajo en un valor predeterminado, a fin de que se cumpla la Ecuación 5. Cuando la distancia de trabajo es demasiado pequeña o demasiado grande, la apertura numérica efectiva queda limitada de manera innecesaria, originando pérdidas de luz perjudiciales. En realizaciones alternativas de la 35 presente invención, la distancia de trabajo se mantiene preferentemente por debajo de 3.0 milímetros y preferiblemente entre aproximadamente 1.0

milímetro y aproximadamente 3.0 milímetros, y aún más preferiblemente entre aproximadamente 1.5 milímetros y aproximadamente 2.5 milímetros.

Otra consideración importante es la profundidad h o posición de la muestra 5 con respecto a la superficie interna de la cara de salida 109b de la cámara 109. Los resultados de la Figura 6 muestran la fracción porcentual de la luz capturada en la semiesfera superior de la muestra, en función de la profundidad de la muestra en la cámara 109. Los datos han sido calculados con los siguientes parámetros para la lente colectora: (1) apertura numérica 10 (NA) de la lente colectora NA = 1.40, (2) índice de refracción del aceite de inmersión (n') entre la lente frontal 150 y la cara de salida 109b $n' = 1.51$, (3) índice de refracción del medio de suspensión de la muestra $n = 1.33$, (4) diámetro de la lente frontal $d = 9.5020$ mm y (5) distancia de trabajo $w = 1.92$ mm. Como se muestra en la Figura 6, para capturar una gran parte de la luz 15 que se propaga en direcciones incluidas en la semiesfera superior, la profundidad de la muestra ha de estar preferentemente entre 0 y aproximadamente 200 micrómetros, preferiblemente entre 0 y aproximadamente 100 micrómetros, y aún más preferiblemente entre 0 y aproximadamente 50 micrómetros. Como resultado de estos hallazgos, la 20 presente invención hace uso de cámaras microfluídicas delgadas 109 para mantener las muestras 108 cercanas tanto a la lente colectora 110 como a la lente objetivo de atrapamiento 107. Según realizaciones alternativas de la presente invención, el grosor de la cámara 109 ha de estar preferiblemente entre aproximadamente 50 y aproximadamente 200 micras. Para permitir que 25 la muestra 108 pueda ser atrapada a una mayor distancia de la cara de entrada 109a de la cámara 109, se puede utilizar alternativamente una lente objetivo de atrapamiento 107 de inmersión en agua. Estas lentes permiten trabajar a distancias de varios cientos de micras sin merma de calidad en sus propiedades ópticas, y su utilización facilitaría provechosamente la utilización 30 de cámaras microfluídicas 109 de mayor grosor.

En referencia continuada a la Figura 1, se incluye un dispositivo sensor de luz en el camino óptico del haz con posterioridad a la lente colectora 110. La fuerza total que actúa sobre la partícula atrapada 108 puede obtenerse 35 sumando los cambios de momento individuales que han sufrido todos los fotones que constituyen el haz 128. Según una realización, esto se consigue situando un dispositivo sensor de posición bidimensional (PSD, del inglés

Position Sensitive Device) basado en el efecto lateral, en el plano focal trasero 111 de la lente colectora o en un equivalente óptico. Los PSD de efecto lateral son fotodetectores que responden con photocorrientes proporcionales tanto a la potencia radiante que incide en cada punto de una capa resistiva expuesta, como a la distancia entre el punto iluminado y unos electrodos de referencia. Los PSD bidimensionales permiten, por tanto, medir la posición de un punto luminoso dentro del área expuesta, según:

$$S_x = k \int I(x, y) x dx dy \quad (6)$$

$$S_y = k \int I(x, y) y dx dy$$

donde k es una constante determinada por la sensibilidad y geometría del detector e $I(x, y)$ es la irradiancia del haz incidente en el punto de coordenadas (x, y) 203 del área sensible. Cuando se sitúa en el plano focal trasero de la lente analizadora, las coordenadas x e y representan componentes transversales del momento de los fotones en una cierta escala:

$$x = \frac{\lambda f'}{h} p_x \quad (7)$$

$$y = \frac{\lambda f'}{h} p_y$$

En efecto:

$$p_x = \hbar \frac{2\pi}{\lambda} \alpha = \hbar \frac{2\pi}{\lambda} \sin \theta \quad (7')$$

en virtud de la Ecuación 3. Finalmente, según la condición del seno de Abbe, lo anterior puede escribirse como:

$$p_x = \hbar \frac{2\pi}{\lambda} \frac{x}{f'} \Rightarrow x = \frac{\lambda f'}{h} p_x \quad (7'')$$

como se pretendía demostrar. El razonamiento es análogo para la coordenada y . Dado que $I(x, y) dx dy$ es la potencia radiante en el punto (x, y) y por tanto proporcional al número de fotones por unidad de tiempo con momento transversal (p_x, p_y) , las integrales de la Ecuación 6 representan, respectivamente, la adición ordenada de las componentes x e y de todos los momentos. El cambio en las señales S_x y S_y antes y después de que la luz atravesie la muestra es, por consiguiente, proporcional a la fuerza luminosa.

Una ventaja de la presente invención es que las medidas de fuerza se basan exclusivamente en primeros principios. En la realización de la Figura 1, el dispositivo sensor de luz se encuentra fuera de la lente colectora 110 y se emplea una lente auxiliar o de relé 114 para formar la imagen del plano focal trasero 111 de la lente colectora 110 sobre el dispositivo sensor de luz 115. En realizaciones donde se usan lentes de relé para crear equivalentes ópticos del plano focal trasero de la lente colectora, el diámetro de la lente de relé es preferiblemente mayor o igual que el diámetro del diafragma de apertura situado en el plano focal trasero (y que no se muestra en la Figura 1) de la lente colectora y ha de producir un aumento preferiblemente igual al diámetro del dispositivo sensor de luz dividido por el diámetro del diafragma de apertura.

En una realización alternativa, el dispositivo sensor de luz puede ser una cámara u otro dispositivo que sea capaz de generar una imagen computerizada correspondiente a la imagen óptica del plano focal 111 de la lente colectora 110, siendo esta imagen procesable para obtener medidas de fuerza óptica sobre la partícula 108.

Para impedir la saturación del dispositivo sensor de luz 115, p. ej. un PSD, puede insertarse un filtro neutro 113 en el camino óptico entre la lente colectora 110 y el dispositivo sensor 115 a fin de atenuar la luz procedente de la trampa.

La Figura 7 muestra una imagen del plano focal trasero de un condensador de microscopio, de inmersión en aceite, con apertura numérica de 1.40, recogiendo la luz dispersada por una microesfera de poliestireno de 3 micras, suspendida en agua ($n=1.32$ para $\lambda=1.064 \mu\text{m}$), atrapada con una trampa de haz único creada por un objetivo de microscopio de inmersión en agua, de apertura numérica 1.20, y puesta en contacto con la cara de salida 109b (es decir a $h = 0$) de la cámara 109. El plano puede calibrarse en función de la apertura numérica formando la imagen del diafragma de apertura de varios objetivos de microscopio de características definidas. Alternativamente, una red de difracción de periodo conocido, iluminada por un haz colimado de longitud de onda conocida, difracta luz en ángulos bien definidos y conocidos (órdenes de difracción), que quedan finalmente focalizados en puntos únicos en el plano focal trasero, fácilmente identificables. Estos órdenes de

difracción pueden ser utilizados también para calibrar el plano focal. La imagen muestra que hay luz que está siendo recogida cerca del límite teórico de $NA = 1.32$ (correspondiente a semiángulos cercanos a 90° dentro del agua de suspensión) como puede verse con facilidad en las esquinas derecha 5 superior e izquierda inferior de la figura. La intensidad de la luz recogida determinada experimentalmente está cerca del 95% de la intensidad total del haz (lectura sin muestra, equivalente a la luz dispersada en toda la esfera de 4p radianes). Como comparación, cuando la apertura numérica efectiva de la lente colectora se reduce a 0.95, las pérdidas de luz equivalen a un 15-30% 10 de la luz total dispersada por la muestra. Es importante hacer notar que las pérdidas de luz constantes y uniformes (que no dependan del ángulo) son irrelevantes para la medida de fuerzas, dado que producirían exactamente los mismos patrones en el plano focal trasero de la lente colectora, pero más tenues. La señal del PSD sería menor (pero siempre proporcional) lo que 15 podría compensarse en la determinación de la constante de calibración C , como se discute posteriormente.

En una realización, las pérdidas por reflexión en la interfase entre la cara de salida 109b y el medio de suspensión 406, que son dependientes del ángulo, 20 pueden reducirse o eliminarse con un recubrimiento antireflejante específico para múltiples ángulos y ajustado a la longitud de onda del láser, depositado en la superficie interna de la cara de salida 109b. Alternativamente, una máscara no uniforme que actúe por transmisión (y que no se muestra en la Figura 1), con una variación radial de transmitancia proporcional al inverso de 25 los factores de reflexión, puede situarse en el plano focal trasero de la lente colectora o en sus conjugados (por ejemplo, en el plano del PSD) con el mismo propósito, dado que haces paralelos de luz dentro del medio de suspensión quedan focalizados en puntos únicos en estos planos.

30 Como se menciona con anterioridad, y en contraste con los métodos indirectos de determinación de la fuerza (como el de calibración de la constante elástica de la trampa, basado en modelos), la presente invención se basa en primeros principios. Una vez determinada la constante C que relaciona las lecturas del PSD (en voltios, por ejemplo) y la fuerza luminosa 35 (en piconewtons, por ejemplo), las medidas pueden llevarse a cabo con independencia de las condiciones experimentales, tales como la temperatura,

los índices de refracción, el tamaño de la muestra, la potencia del láser y la geometría de la trampa, etc.

La Figura 8 muestra los resultados de un experimento en el cual fuerzas conocidas son aplicadas sobre microesferas de poliestireno atrapadas, con diámetros e índices de refracción distintos y a potencias láser y con objetivos de microscopio diferentes para crear la trampa óptica. La fuerza externa se ejerce mediante flujos controlados del medio de suspensión, creados moviendo a velocidades prefijadas una plataforma piezoeléctrica que sostiene la microcámara 109. La fuerza de Stokes inducida sobre la microesfera puede calcularse, dado que la velocidad del fluido, su viscosidad y el radio de la partícula son conocidos. La fuerza actúa sobre la partícula desplazándola lateralmente de su posición de reposo, hasta un punto en el que la fuerza ejercida por la trampa contrarresta exactamente la fuerza viscosa del fluido. Con esa identificación, la fuerza óptica real ejercida por la trampa puede determinarse para estas condiciones particulares. La gráfica muestra la relación entre las lecturas del PSD (eje y), siguiendo un método de la presente invención, y la fuerza óptica conocida según se ha explicado (fuerza de Stokes, eje x), al efectuar movimientos sinusoidales con la plataforma piezoeléctrica. La relación lineal y la independencia de la pendiente promedio con respecto a las cambiantes condiciones experimentales es evidente en la Figura 8. Además, la inversa de esta pendiente es la constante de calibración C (en pN/V) que permite convertir las lecturas del PSD en medidas de fuerza óptica. Por tanto, el experimento establece además un método para medir la constante C.

Volviendo de nuevo a la Figura 1, un primer y segundo espejos dicroicos, 105 y 122 respectivamente, pueden añadirse al sistema 100 para permitir a la trampa óptica integrarse dentro del tren de imagen de un microscopio óptico, reflejando de manera selectiva la luz del láser de atrapamiento y permitiendo simultáneamente el paso de otras longitudes de onda. Por ejemplo, el espejo dicroico 112 puede integrarse dentro del tren de iluminación de un microscopio óptico mientras que el espejo dicroico 105 puede integrarse dentro del tren de imagen.

35

Como se ilustra en las Figuras 9A y 9B, una lente colectora según la presente invención que recoja y descomponga la luz en sus momentos constituyentes

puede muy bien tratarse de un condensador de inmersión, montado sobre un microscopio ordinario 600. En el microscopio puede, por otro lado, montarse simultáneamente un equipo de pinzas ópticas para formar un sistema completo. Existen equipos de pinzas ópticas comerciales disponibles

- 5 fácilmente, compatibles con las principales marcas de microscopios de investigación, y que utilizan los propios objetivos del microscopio para formar la trampa óptica.

Las Figuras 9A y 9B ilustran la compatibilidad del método y sistema de la

- 10 presente invención con un microscopio óptico ordinario 600, al encajar con facilidad en el tren óptico, por ejemplo, de un iluminador Köhler. La Figura 9A muestra esquemáticamente el tren de imagen y la Figura 9B el tren de iluminación de un microscopio óptico invertido, similar a los utilizados conjuntamente con equipos de pinzas ópticas.

15 En la Figura 9B, la luz de una lámpara halógena 601 es redirigida por una lente colectora 602 a través de un diafragma de campo 603 y focalizada sobre el diafragma de apertura 606 de la lente condensadora 610, por la lente colimadora 604. Dado que el diafragma de apertura 606 se encuentra 20 en el plano focal trasero de la lente condensadora 610, la luz queda colimada al atravesar el condensador, iluminando la muestra 608 y siendo focalizada de nuevo por el objetivo 607 sobre su diafragma de apertura 609, situado en su plano focal trasero. Además, y en referencia a la Figura 9A, el colimador 25 604 y las lentes del condensador 610 forman la imagen del diafragma de campo 603 sobre el plano de la muestra. Los dos trenes ópticos pueden entenderse como una sucesión de planos conjugados. Por ejemplo, en el tren de imagen, el plano de la muestra 608 y el diafragma de campo 603 son conjugados mientras que en el tren de iluminación, la lámpara halógena 601, el diafragma de apertura 606 del condensador 610, y el diafragma de 30 apertura 609 del objetivo 607 son también conjugados. Es importante señalar que los planos conjugados del tren de iluminación y los del tren de imagen pueden entenderse como relacionados por transformadas de Fourier, ya que se encuentran alternativamente en planos focales traseros de lentes intermedias. En particular, el diafragma de apertura del condensador 606 forma un par de Fourier con el plano de la muestra 608. Esta estructura 35 puede utilizarse de manera natural, para integrar el sistema de medida de la presente invención en el tren de iluminación, como se muestra en la Figura

9B. Una lente de alta apertura numérica 610, siendo dicha apertura numérica mayor o igual que el índice de refracción del medio destinado a suspender la muestra (un condensador de inmersión en aceite modificado, por ejemplo), reemplaza al condensador habitual, trabajando en dirección inversa como
5 lente colectora. Se puede utilizar un espejo dicroico 605 para redirigir la luz que llega de la trampa hacia un detector sensible a la luz 612, tal como un PSD, que se halla situado en el plano focal trasero de la lente colectora, o en un equivalente óptico del mismo. La luz que proviene del iluminador en dirección opuesta atraviesa el espejo dicroico 605 y baña la muestra como
10 antes. Una lente auxiliar o de relé 614 podría ser necesaria cuando el plano focal trasero de la lente 610 no se encuentra fácilmente accesible (como se muestra en la Figura 9B), formando la imagen del plano sobre el PSD. Con esta implementación, el microscopio permanece totalmente funcional.

15 La Figura 10 ilustra un sistema/dispositivo 700 adaptable para su inserción en el tren óptico de un microscopio, que permite la medida de las fuerzas ópticas que actúan sobre una partícula atrapada suspendida en un medio dentro de una cámara de suspensión 701. El dispositivo está configurado para sustituir a la lente condensadora del microscopio. En la realización de la Figura 10, el
20 dispositivo incluye un sistema de lentes colector 702 que incluye una lente frontal 703 y una o varias lentes internas 704. La función y estructura de la lente o sistema de lentes colectoras 702 es similar a la lente colectora 110 discutida anteriormente con la excepción de que el dispositivo sensor de luz 115, el filtro 113 y la lente de relé 114 están integrados con la lente colectora 702 para, preferiblemente, formar un único dispositivo. En la realización mostrada, el dispositivo sensor de luz 115, tal como un PSD o una cámara, está fijado en un lateral de la carcasa 705 que contiene el sistema de lentes colector. En realizaciones alternativas, el dispositivo sensor de luz 115 se fija a la carcasa 705 contenedora de la lente colectora 702, pero separada una
25 cierta distancia por medio de un soporte u otro medio adecuado. Situada dentro de la carcasa 705 se encuentra también una lente de relé 114 que forma la imagen de la distribución de luz situada en el plano focal trasero 706 sobre el dispositivo sensor de luz 115. Un espejo dicroico 112 redirige la luz que proviene de la trampa hacia el dispositivo sensor de luz 115, permitiendo simultáneamente que la luz de otras longitudes de onda pasen hacia la muestra. El filtro 113 se sitúa entre el espejo dicroico 112 y el dispositivo
30 sensor de luz 115 para atenuar la luz redirigida e impedir que sature el
35 dispositivo sensor de luz 115.

dispositivo sensor. El dispositivo sensor de luz 115 es preferiblemente conectable a un ordenador u otro dispositivo vía uno o más conectores o cables 708, o a través de una transmisión inalámbrica, para producir medidas de fuerza en un formato legible. La lente colectora 702 está diseñada para 5 ponerse en contacto con la cara de salida 701a de la cámara de suspensión 701, a través de un medio de inmersión, tal como agua o aceite, y está diseñado para tener una apertura numérica mayor o igual que el índice de refracción del medio destinado a suspender la muestra dentro de la cámara 701. En una realización alternativa, un espaciador se puede fijar de manera 10 desmontable a la lente colectora 702 o integrarse estructuralmente en la carcasa que la aloja 705, con la función de mantener la deseada distancia de trabajo w entre la lente colectora y la cara de salida 701a de la cámara 701.

La Figura 11 ilustra un sistema/dispositivo 720 adaptable para su inserción en 15 el tren óptico de un microscopio, que permite la medida de las fuerzas ópticas que actúan sobre una partícula atrapada suspendida en un medio dentro de una cámara de suspensión 701. El dispositivo está configurado para sustituir a la lente condensadora del microscopio. En la realización de la Figura 11, el dispositivo incluye un sistema de lentes colector 702 que incluye una lente 20 frontal 703 y una o varias lentes internas 704. La función y estructura de la lente o sistema de lentes colectoras 702 es similar a la lente colectora 110 discutida anteriormente con la excepción de que el dispositivo sensor de luz 115, la lente de relé 114 y la máscara de transmisión 721 están integrados con la lente colectora 702 para, preferiblemente, formar un único dispositivo. 25 En la realización mostrada, el dispositivo sensor de luz 115, tal como un PSD o una cámara, está fijado en un lateral de la carcasa 705 que contiene el sistema de lentes colector. En realizaciones alternativas, el dispositivo sensor de luz 115 se fija a la carcasa 705 contenedora de la lente colectora 702 pero separada una cierta distancia por medio de un soporte u otro medio 30 adecuado. Situada dentro de la carcasa 705 se encuentra también una lente de relé 114 que forma la imagen de la distribución de luz situada en el plano focal trasero 706 sobre el dispositivo sensor de luz 115. Un espejo dicroico 112 redirige la luz que proviene de la trampa hacia el dispositivo sensor de luz 115, permitiendo simultáneamente que la luz de otras longitudes de onda 35 pasen hacia la muestra. La máscara de transmisión 721, posicionada cerca o preferiblemente sobre el dispositivo sensor de luz 115, se incluye para compensar las pérdidas por reflexión que presumiblemente ocurrirán en la

cara de salida 701a de la cámara de suspensión de muestras 701. El dispositivo sensor de luz 115 es preferiblemente conectable a un ordenador u otro dispositivo vía uno o más conectores o cables 708, o a través de una transmisión inalámbrica, para producir medidas de fuerza en un formato legible. La lente colectora 702 está diseñada para ponerse en contacto con la cara de salida 701a de la cámara de suspensión 701, a través de un medio de inmersión, tal como agua o aceite, y está diseñado para tener una apertura numérica mayor o igual que el índice de refracción del medio destinado a suspender la muestra dentro de la cámara 701. En una realización alternativa, un espaciador se puede fijar de manera desmontable a la lente colectora 702 o integrarse estructuralmente en la carcasa que la aloja 705, con la función de mantener la deseada distancia de trabajo w entre la lente colectora y la cara de salida 701a de la cámara 701.

La Figura 12 ilustra un sistema/dispositivo 730 adaptable para su inserción en el tren óptico de un microscopio, que permite la medida de las fuerzas ópticas que actúan sobre una partícula atrapada suspendida en un medio dentro de una cámara de suspensión 701. El dispositivo está configurado para sustituir a la lente condensadora del microscopio. En la realización de la Figura 12, el dispositivo incluye un sistema de lentes colector 702 que incluye una lente frontal 703 y una o varias lentes internas 704. La función y estructura de la lente o sistema de lentes colectoras 702 es similar a la lente colectora 110 discutida anteriormente con la excepción de que el dispositivo sensor de luz 115, el filtro 113, la lente de relé 114 y la máscara de transmisión 721 están integrados con la lente colectora 702 para, preferiblemente, formar un único dispositivo. En la realización mostrada, el dispositivo sensor de luz 115, tal como un PSD o una cámara, está fijado en un lateral de la carcasa 705 que contiene el sistema de lentes colector. En realizaciones alternativas, el dispositivo sensor de luz 115 se fija a la carcasa 705 contenedora de la lente colectora 702 pero separada una cierta distancia por medio de un soporte u otro medio adecuado. Situada dentro de la carcasa 705 se encuentra también una lente de relé 114 que forma la imagen de la distribución de luz situada en el plano focal trasero 706 sobre el dispositivo sensor de luz 115. Un espejo dicroico 112 redirige la luz que proviene de la trampa hacia el dispositivo sensor de luz 115, permitiendo simultáneamente que la luz de otras longitudes de onda pasen hacia la muestra. El filtro 113 se sitúa entre el espejo dicroico 112 y el dispositivo sensor de luz 115 para atenuar la luz

redirigida e impedir que sature el dispositivo sensor. La máscara de transmisión 721, posicionada cerca o preferiblemente sobre el dispositivo sensor de luz 115, se incluye para compensar las pérdidas por reflexión que presumiblemente ocurrirán en la cara de salida 701a de la cámara de suspensión de muestras 701. El dispositivo sensor de luz 115 es preferiblemente conectable a un ordenador u otro dispositivo vía uno o más conectores o cables 708, o a través de una transmisión inalámbrica, para producir medidas de fuerza en un formato legible. La lente colectora 702 está diseñada para ponerse en contacto con la cara de salida 701a de la cámara de suspensión 701, a través de un medio de inmersión, tal como agua o aceite, y está diseñado para tener una apertura numérica mayor o igual que el índice de refracción del medio destinado a suspender la muestra dentro de la cámara 701. En una realización alternativa, un espaciador se puede fijar de manera desmontable a la lente colectora 702 o integrarse estructuralmente en la carcasa que la aloja 705, con la función de mantener la deseada distancia de trabajo w entre la lente colectora y la cara de salida 701a de la cámara 701.

La Figura 13 ilustra un sistema/dispositivo 740 adaptable para su inserción en el tren óptico de un microscopio, que permite la medida de las fuerzas ópticas que actúan sobre una partícula atrapada suspendida en un medio dentro de una cámara de suspensión 701. El dispositivo está configurado para sustituir a la lente condensadora del microscopio. En la realización de la Figura 13, el dispositivo incluye un sistema de lentes colector 702 que incluye una lente frontal 703 y una o varias lentes internas 704. La función y estructura de la lente o sistema de lentes colectoras 702 es similar a la lente colectora 110 discutida anteriormente con la excepción de que el dispositivo sensor de luz 115 y el filtro 113 están integrados con la lente colectora 702 para, preferiblemente, formar un único dispositivo, estando el dispositivo sensor de luz 115 situado en o cerca del plano focal trasero de la lente colectora 702. Un espejo dicroico 112 redirige la luz que proviene de la trampa hacia el dispositivo sensor de luz 115, permitiendo simultáneamente que la luz de otras longitudes de onda pasen hacia la muestra. Para trasladar adecuadamente el plano focal trasero al plano del dispositivo sensor de luz, las distancias "s" entre el espejo 112 y el plano focal trasero 706, y entre el espejo 112 y el dispositivo sensor de luz 115, han de hacerse iguales o sustancialmente iguales. El filtro 113 se sitúa entre el espejo dicroico 112 y el

dispositivo sensor de luz 115 para atenuar la luz redirigida e impedir que
sature el dispositivo sensor. El dispositivo sensor de luz 115 es
preferiblemente conectable a un ordenador u otro dispositivo vía uno o más
conectores o cables 708, o a través de una transmisión inalámbrica, para
5 producir medidas de fuerza en un formato legible. La lente colectora 702 está
diseñada para ponerse en contacto con la cara de salida 701a de la cámara
de suspensión 701, a través de un medio de inmersión, tal como agua o
aceite, y está diseñado para tener una apertura numérica mayor o igual que
el índice de refracción del medio destinado a suspender la muestra dentro de
10 la cámara 701. En una realización alternativa, un espaciador se puede fijar de
manera desmontable a la lente colectora 702 o integrarse estructuralmente
en la carcasa que la aloja 705, con la función de mantener la deseada
distancia de trabajo w entre la lente colectora y la cara de salida 701a de la
cámara 701.

15 La Figura 14 ilustra un sistema/dispositivo 750 adaptable para su inserción en
el tren óptico de un microscopio, que permite la medida de las fuerzas ópticas
que actúan sobre una partícula atrapada suspendida en un medio dentro de
una cámara de suspensión 701. El dispositivo está configurado para sustituir
20 a la lente condensadora del microscopio. En la realización de la Figura 14, el
dispositivo incluye un sistema de lentes colector 702 que incluye una lente
frontal 703 y una o varias lentes internas 704. La función y estructura de la
lente o sistema de lentes colectoras 702 es similar a la lente colectora 110
discutida anteriormente con la excepción de que el dispositivo sensor de luz
25 115 y una máscara de transmisión 721 están integrados con la lente
colectora 702 para, preferiblemente, formar un único dispositivo, estando el
dispositivo sensor de luz 115 situado en o cerca del plano focal trasero de la
lente colectora 702. Un espejo dicroico 112 redirige la luz que proviene de la
trampa hacia el dispositivo sensor de luz 115, permitiendo simultáneamente
30 que la luz de otras longitudes de onda pasen hacia la muestra. Para trasladar
adecuadamente el plano focal trasero al plano del dispositivo sensor de luz,
las distancias "s" entre el espejo 112 y el plano focal trasero 706, y entre el
espejo 112 y el dispositivo sensor de luz 115, han de hacerse iguales o
sustancialmente iguales. La máscara de transmisión 721, posicionada cerca
35 o preferiblemente sobre el dispositivo sensor de luz 115, se incluye para
compensar las pérdidas por reflexión que presumiblemente ocurrirán en la
cara de salida 701a de la cámara de suspensión de muestras 701. El

dispositivo sensor de luz 115 es preferiblemente conectable a un ordenador u otro dispositivo vía uno o más conectores o cables 708, o a través de una transmisión inalámbrica, para producir medidas de fuerza en un formato legible. La lente colectora 702 está diseñada para ponerse en contacto con la 5 cara de salida 701a de la cámara de suspensión 701, a través de un medio de inmersión, tal como agua o aceite, y está diseñado para tener una apertura numérica mayor o igual que el índice de refracción del medio destinado a suspender la muestra dentro de la cámara 701. En una 10 realización alternativa, un espaciador se puede fijar de manera desmontable a la lente colectora 702 o integrarse estructuralmente en la carcasa que la aloja 705, con la función de mantener la deseada distancia de trabajo w entre la lente colectora y la cara de salida 701a de la cámara 701.

La Figura 15 ilustra un sistema/dispositivo 760 adaptable para su inserción en 15 el tren óptico de un microscopio, que permite la medida de las fuerzas ópticas que actúan sobre una partícula atrapada suspendida en un medio dentro de una cámara de suspensión 701. El dispositivo está configurado para sustituir a la lente condensadora del microscopio. En la realización de la Figura 15, el dispositivo incluye un sistema de lentes colector 702 que incluye una lente 20 frontal 703 y una o varias lentes internas 704. La función y estructura de la lente o sistema de lentes colectoras 702 es similar a la lente colectora 110 discutida anteriormente con la excepción de que el dispositivo sensor de luz 115, un filtro 113 y una máscara de transmisión 721 están integrados con la lente colectora 702 para, preferiblemente, formar un único dispositivo, 25 estando el dispositivo sensor de luz 115 situado en o cerca del plano focal trasero de la lente colectora 702. Un espejo dicroico 112 redirige la luz que proviene de la trampa hacia el dispositivo sensor de luz 115, permitiendo simultáneamente que la luz de otras longitudes de onda pasen hacia la muestra. Para trasladar adecuadamente el plano focal trasero al plano del 30 dispositivo sensor de luz, las distancias "s" entre el espejo 112 y el plano focal trasero 706, y entre el espejo 112 y el dispositivo sensor de luz 115, han de hacerse iguales o sustancialmente iguales. El filtro 113 se sitúa entre el espejo dicroico 112 y el dispositivo sensor de luz 115 para atenuar la luz redirigida e impedir que sature el dispositivo sensor. La máscara de 35 transmisión 721, posicionada cerca o preferiblemente sobre el dispositivo sensor de luz 115, se incluye para compensar las pérdidas por reflexión que presumiblemente ocurrirán en la cara de salida 701a de la cámara de

suspensión de muestras 701. El dispositivo sensor de luz 115 es preferiblemente conectable a un ordenador u otro dispositivo vía uno o más conectores o cables 708, o a través de una transmisión inalámbrica, para producir medidas de fuerza en un formato legible. La lente colectora 702 está 5 diseñada para ponerse en contacto con la cara de salida 701a de la cámara de suspensión 701, a través de un medio de inmersión, tal como agua o aceite, y está diseñado para tener una apertura numérica mayor o igual que el índice de refracción del medio destinado a suspender la muestra dentro de la cámara 701. En una realización alternativa, un espaciador se puede fijar de 10 manera desmontable a la lente colectora 702 o integrarse estructuralmente en la carcasa que la aloja 705, con la función de mantener la deseada distancia de trabajo w entre la lente colectora y la cara de salida 701a de la cámara 701.

15 Volviendo de nuevo a la Figura 1, es importante hacer notar que el sistema 100 puede no incluir todos y cada uno de los elementos mostrados. Además, otras combinaciones de elementos y/o componentes pueden constituir un sistema o dispositivo para medir las fuerzas ópticas que actúan sobre una partícula, sin por ello desviarse de la cobertura y del alcance de la presente invención. En una realización, el sistema puede comprender la fuente de luz 101, la cámara 109, la lente objetivo de atrapamiento de alta apertura numérica 107, la lente colectora 110 con apertura numérica mayor o igual que el índice de refracción del medio de suspensión destinado a suspender la muestra dentro de la cámara, y un dispositivo sensor de luz situado en o 20 cerca del plano focal trasero de la lente colectora, o en un equivalente óptico del mismo. Los componentes 102, 104, 105, 112, 114, 130 y 132, pueden individualmente o en combinación con otro u otros componentes, ser omitidos del sistema. Por ejemplo, no es necesario que el sistema se integre en el tren óptico de un microscopio. En tales sistemas, la fuente láser 101 y el 25 dispositivo sensor de luz pueden alinearse de manera directa con los ejes ópticos del objetivo de atrapamiento 107 y de la lente colectora 110, obviando de ese modo la necesidad de utilizar los dicroicos 105 y 112. Adicionalmente se contempla la posibilidad de que pueda construirse una fuente láser 101 que produzca un haz de luz colimado y/o con polarización circular, capaz de 30 cubrir exactamente o rebasar ligeramente de manera directa la pupila de entrada 106 del objetivo de atrapamiento 107, sin necesidad de uno o más de los componentes 102, 103, 130, 132 y 104. Se contempla que componentes 35

o características adicionales puedan ser añadidos al sistema 100 para mejorar sus capacidades sin por ello desviarse del espíritu y alcance de la presente invención.

REIVINDICACIONES

1. Sistema que comprende:

una fuente láser para generar un único haz de luz,

- 5 una cámara para contener una partícula en un medio de suspensión,
una lente objetivo de atrapamiento de alta apertura numérica para focalizar el
haz de luz sobre la partícula, de tal manera que se consiga que los fotones
del haz de luz atrapen la partícula mediante el uso de fuerzas de gradiente
elevadas,
- 10 una lente o sistema de lentes colectora única posicionada para capturar en la
semiesfera superior de la partícula tanto los fotones deflectados como no
deflectados por la partícula, teniendo la lente colectora una apertura
numérica mayor o igual que el índice de refracción de un medio de
suspensión destinado a suspender la partícula en la cámara; y
- 15 un dispositivo sensor de luz posicionado en o cerca del plano focal trasero de
la lente colectora, o de un equivalente óptico del mismo.

2. Sistema según la reivindicación 1, donde la fuente de luz es una fuente de luz láser de alta potencia.

20

3. Sistema según la reivindicación 1, donde la lente colectora tiene una apertura numérica entre aproximadamente 1.32 y aproximadamente 1.40.

25

4. Sistema según la reivindicación 1, donde la lente objetivo tiene una apertura numérica entre aproximadamente 0.90 y aproximadamente 1.40.

30

5. Sistema según la reivindicación 1, donde el haz de luz producido por la fuente de luz tiene polarización lineal, comprendiendo el aparato además una lámina de media onda colocada entre la fuente de luz y la lente objetivo de atrapamiento, para convertir la polarización lineal en circular o en sustancialmente circular.

6. Sistema según la reivindicación 1, donde el dispositivo sensor de luz es un dispositivo sensor de posición o una cámara.

35

7. Sistema según la reivindicación 6, donde el dispositivo sensor de posiciones es del tipo duolateral, generando dos señales eléctricas

proporcionales a las coordenadas x e y del centro de masas de la distribución de luz proyectada en el dispositivo sensor de posiciones.

8. Sistema según la reivindicación 1, que además comprende un filtro

5 colocado entre la lente frontal del sistema de lentes colector y el dispositivo sensor de luz para impedir la saturación del dispositivo sensor de luz.

9. Sistema según la reivindicación 1, donde la cámara posee una cara de salida, el aparato además comprende una máscara que, actuando por

10 transmisión, y colocada cerca o pegada al dispositivo sensor de luz, compensa las pérdidas por reflexión producidas en la cara de salida.

10. Sistema según la reivindicación 1, que además comprende una lente

auxiliar o de relé para generar una copia de la distribución de luz en o cerca

15 del plano focal trasero de la lente colectora sobre el dispositivo sensor de luz.

11. Sistema según la reivindicación 1, donde la lente objetivo de atrapamiento tiene una pupila de entrada, el aparato además comprende una o más lentes

20 colocadas entre la fuente de luz y la pupila de entrada, dicha lente o lentes configuradas para modificar el diámetro del haz de luz para cubrir

exactamente o rebasar ligeramente el diámetro de la pupila de entrada de la lente objetivo de atrapamiento.

12. Sistema según la reivindicación 1, donde la cámara posee una cara de

25 salida con una propiedad antireflejante que minimiza las reflexiones de los fotones luminosos en dicha cara de salida.

13. Sistema según la reivindicación 12, donde la propiedad antireflejante hace que la pérdida de fotones debida a la reflexión en la cara de salida

30 permanezca constante en cualquier punto de dicha cara de salida,

independientemente del ángulo de incidencia de los fotones que llegan a ese punto.

14. Sistema según la reivindicación 1, donde el dispositivo sensor de luz es

35 capaz, directa o indirectamente, de producir medidas de la fuerza óptica que actúa sobre la partícula, derivadas de las coordenadas x e y del centro de masas de la distribución de luz proyectada sobre el dispositivo sensor de luz.

15. Sistema según la reivindicación 1, donde el dispositivo sensor de luz es capaz de generar una imagen computerizada correspondiente a la imagen óptica del plano focal trasero de la lente colectora, siendo esta imagen procesable para obtener medidas de fuerza óptica sobre la partícula.
 16. Sistema según la reivindicación 1 que además comprende un espaciador dispuesto para mantener una distancia de trabajo particular entre la muestra y la lente frontal del sistema de lentes colector.
- 10
17. Método para medir las fuerzas ópticas que actúan sobre una partícula que comprende:
suspender la partícula en un medio de suspensión dentro de una cámara, focalizar un haz único de luz sobre la partícula de tal manera que se consiga que los fotones del haz de luz atrapen la partícula mediante el uso de fuerzas de gradiente elevadas,
 - 15
capturar en la semiesfera superior de la partícula tanto los fotones deflectados como no deflectados por la partícula por una única lente o sistema de lentes colectoras, teniendo el sistema colector una apertura numérica mayor o igual que el índice de refracción del medio de suspensión;
 - 20
y
dirigir los fotones recogidos hacia un dispositivo sensor de luz posicionado en o cerca del plano focal trasero de la lente colectora, o de un equivalente óptico del mismo.
- 25
18. Método según la reivindicación 17 que además comprende generar señales eléctricas proporcionales a las coordenadas x e y del centro de masas de la distribución de luz proyectada sobre el dispositivo sensor de luz.
 - 30
19. Método según la reivindicación 17, donde al haz de luz focalizado sobre la partícula se le induce una polarización circular o sustancialmente circular.
 - 35
20. Método según la reivindicación 17, donde la cámara posee una cara de entrada y una cara de salida, estando la partícula suspendida más cerca de la cara de salida que de la de entrada.

21. Método según la reivindicación 17, donde el equivalente óptico del plano focal trasero es generado por una lente auxiliar o de relé colocada entre la lente colectora y el dispositivo sensor de luz.

5 22. Método según la reivindicación 17, donde la cámara posee una cara de salida, comprendiendo el método además la compensación de las pérdidas por reflexión en la cara de salida, mediante una máscara de transmisión no uniforme colocada en o cerca del plano focal trasero o en un equivalente del mismo.

10 23. Método según la reivindicación 17, donde la cámara posee una cara de salida, el método además comprende la compensación de las pérdidas por reflexión en la cara de salida, mediante el uso de un material antireflejante fijado o incorporado a la cara de salida.

15 24. Método según la reivindicación 17, donde la cámara posee una cara de salida, el método además comprende la provisión de que la pérdida de fotones debida a la reflexión en la cara de salida permanezca constante en cualquier punto de dicha cara de salida, independientemente del ángulo de incidencia de los fotones que llegan a ese punto.

20 25. Método según la reivindicación 17, donde la lente objetivo de atrapamiento tiene una pupila de entrada, el método además comprende la provisión de cubrir exactamente o rebasar ligeramente el diámetro de la pupila de entrada de la lente objetivo de atrapamiento, modificando el diámetro del haz de luz dirigido a dicha pupila de entrada.

30 26. Método según la reivindicación 17, donde los fotones recogidos se dirigen a un dispositivo sensor de posiciones o a una cámara, formando una imagen óptica en el dispositivo sensor de luz que corresponde con la imagen óptica en o cerca del plano focal trasero de la lente colectora.

35 27. Sistema adaptable para su inserción en el tren óptico de un microscopio óptico, configurado para atrapar con un único haz de luz una partícula suspendida en un medio de suspensión entre la cara de entrada y la cara de salida de una cámara, comprendiendo el sistema:

- una única lente o sistema de lentes colectoras que se emplaza en o cerca de la cara de salida de la cámara de suspensión para capturar en la semiesfera superior de la partícula tanto los fotones deflectados como no deflectados por la partícula, siendo la apertura numérica de la lente colectora mayor o igual
5 que el índice de refracción del medio de suspensión destinado a suspender la partícula en la cámara; y
un dispositivo sensor de luz posicionado en o cerca del plano focal trasero de la lente colectora, o de un equivalente óptico del mismo, siendo el dispositivo sensor capaz, directa o indirectamente, de producir medidas de la fuerza
10 óptica que actúa sobre la partícula, derivadas de las coordenadas x e y del centro de masas de la distribución de luz proyectada sobre el dispositivo sensor de luz.
28. Sistema según la reivindicación 27, donde el dispositivo sensor de luz es
15 capaz de generar señales eléctricas proporcionales a las coordenadas x e y del centro de masas de la distribución de luz proyectada en el dispositivo sensor de posiciones.
29. Sistema según la reivindicación 27, donde el dispositivo sensor de luz es
20 capaz de generar una imagen computerizada correspondiente a la imagen óptica del plano focal trasero de la lente colectora, siendo esta imagen procesable para obtener medidas de fuerza óptica sobre la partícula.
30. Sistema según la reivindicación 27, donde el dispositivo sensor de luz es
25 un dispositivo sensor de posiciones o una cámara.
31. Sistema según la reivindicación 27, que además comprende una lente auxiliar o de relé colocada entre la lente colectora y el dispositivo sensor de luz para generar un equivalente óptico del plano focal trasero.
30
32. Sistema según la reivindicación 27, que además comprende un filtro colocado entre la lente frontal del sistema de lentes colector y el dispositivo sensor de luz para impedir la saturación del dispositivo sensor de luz.
- 35 33. Sistema según la reivindicación 27, donde la lente colectora tiene una apertura numérica entre aproximadamente 1.32 y aproximadamente 1.40.

34. Sistema según la reivindicación 27, que además comprende una máscara que, actuando por transmisión, y colocada cerca o pegada al dispositivo sensor de luz, compensa las pérdidas por reflexión producidas en la cara de salida.

5

35. Sistema según la reivindicación 30, donde el dispositivo sensor de posiciones es del tipo duolateral, generando dos señales eléctricas proporcionales a las coordenadas x e y del centro de masas de la distribución de luz proyectada en el dispositivo sensor de posiciones.

10

36. Sistema según la reivindicación 27, donde la lente colectora es una lente de inmersión en aceite o una lente de inmersión en agua.

15

37. Sistema según la reivindicación 27, donde la lente colectora y el dispositivo sensor de luz están integrados en un único dispositivo.

38. Sistema según la reivindicación 27, donde la lente colectora, la lente de relé y el dispositivo sensor de luz están integrados en un único dispositivo.

20

39. Sistema según la reivindicación 27, donde la lente colectora, el filtro y el dispositivo sensor de luz están integrados en un único dispositivo.

25

40. Sistema según la reivindicación 27, donde la lente colectora, la máscara que actúa por transmisión y el dispositivo sensor de luz están integrados en un único dispositivo.

30

41. Sistema adaptable para su inserción en el tren óptico de un microscopio óptico, configurado para atrapar con un único haz de luz una partícula suspendida en un medio de suspensión entre la cara de entrada y la cara de salida de una cámara, comprendiendo el sistema:

una única lente o sistema de lentes colectoras que se emplaza en o cerca de la cara de salida de la cámara de suspensión para capturar en la semiesfera superior de la partícula tanto los fotones deflectados como no deflectados por la partícula, siendo la apertura numérica de la lente colectora mayor o igual que el índice de refracción del medio de suspensión destinado a suspender la partícula en la cámara,

35

un dispositivo sensor de luz posicionado en o cerca del plano focal trasero de la lente colectora, o de un equivalente óptico del mismo, siendo el dispositivo sensor capaz, directa o indirectamente, de producir medidas de la fuerza óptica que actúa sobre la partícula, derivadas de las coordenadas x e y del

5 centro de masas de la distribución de luz proyectada sobre el dispositivo sensor de luz,

una lente auxiliar o de relé, posicionada entre la lente colectora y el dispositivo sensor de luz para crear el equivalente óptico del plano focal trasero; y

10 un filtro posicionado entre la lente colectora y el dispositivo sensor de luz para prevenir la saturación del dispositivo sensor de luz.

42. Sistema según la reivindicación 41, donde la lente colectora, la lente de relé, el filtro y el dispositivo sensor de luz están integrados en un único dispositivo.

43. Sistema adaptable para su inserción en el tren óptico de un microscopio óptico, configurado para atrapar con un único haz de luz una partícula suspendida en un medio de suspensión entre la cara de entrada y la cara de salida de una cámara, comprendiendo el sistema:

una única lente o sistema de lentes colectora que se emplaza en o cerca de la cara de salida de la cámara de suspensión para capturar en la semiesfera superior de la partícula tanto los fotones deflectados como no deflectados por la partícula, siendo la apertura numérica de la lente colectora mayor o igual que el índice de refracción del medio de suspensión destinado a suspender la partícula en la cámara,

25 un dispositivo sensor de luz posicionado en o cerca del plano focal trasero de la lente colectora, o de un equivalente óptico del mismo, siendo el dispositivo sensor capaz, directa o indirectamente, de producir medidas de la fuerza

30 óptica que actúa sobre la partícula, derivadas de las coordenadas x e y del centro de masas de la distribución de luz proyectada sobre el dispositivo sensor de luz,

una lente auxiliar o de relé, posicionada entre la lente colectora y el

35 dispositivo sensor de luz para crear el equivalente óptico del plano focal trasero; y

una máscara que, actuando por transmisión, y colocada cerca o pegada al dispositivo sensor de luz, compensa las pérdidas por reflexión producidas en la cámara.

5 44. Sistema según la reivindicación 43, donde la lente colectora, la lente de relé, la máscara que actúa por transmisión y el dispositivo sensor de luz están integrados en un único dispositivo.

10 45. Sistema adaptable para su inserción en el tren óptico de un microscopio óptico, configurado para atrapar con un único haz de luz una partícula suspendida en un medio de suspensión entre la cara de entrada y la cara de salida de una cámara, comprendiendo el sistema:

15 una única lente o sistema de lentes colectoras que se emplaza en o cerca de la cara de salida de la cámara de suspensión para capturar en la semiesfera superior de la partícula tanto los fotones deflectados como no deflectados por la partícula, siendo la apertura numérica de la lente colectora mayor o igual que el índice de refracción del medio de suspensión destinado a suspender la partícula en la cámara,

20 un dispositivo sensor de luz posicionado en o cerca del plano focal trasero de la lente colectora, o de un equivalente óptico del mismo, siendo el dispositivo sensor de luz capaz, directa o indirectamente, de producir medidas de la fuerza óptica que actúa sobre la partícula, derivadas de las coordenadas x e y del centro de masas de la distribución de luz proyectada sobre el dispositivo 25 sensor de luz,

una lente auxiliar o de relé, posicionada entre la lente colectora y el dispositivo sensor de luz para crear el equivalente óptico del plano focal trasero

30 un filtro posicionado entre la lente colectora y el dispositivo sensor de luz para prevenir la saturación del dispositivo sensor de luz; y
una máscara que, actuando por transmisión, y colocada cerca o pegada al dispositivo sensor de luz, compensa las pérdidas por reflexión producidas en la cámara.

35 46. Sistema según la reivindicación 45, donde la lente colectora, la lente de relé, el filtro, la máscara que actúa por transmisión y el dispositivo sensor de luz están integrados en un único dispositivo.

47. Sistema adaptable para su inserción en el tren óptico de un microscopio óptico, configurado para atrapar con un único haz de luz una partícula suspendida en un medio de suspensión entre la cara de entrada y la cara de salida de una cámara, comprendiendo el sistema:

una única lente o sistema de lentes colectoras que se emplaza en o cerca de la cara de salida de la cámara de suspensión para capturar en la semiesfera superior de la partícula tanto los fotones deflectados como no deflectados por la partícula, siendo la apertura numérica de la lente colectora mayor o igual que el índice de refracción del medio de suspensión destinado a suspender la partícula en la cámara,
10 un dispositivo sensor de luz posicionado en o cerca del plano focal trasero de la lente colectora, siendo el dispositivo sensor capaz, directa o indirectamente, de producir medidas de la fuerza óptica que actúa sobre la partícula, derivadas de las coordenadas x e y del centro de masas de la distribución de luz proyectada sobre el dispositivo sensor de luz; y
15 un filtro posicionado entre la lente colectora y el dispositivo sensor de luz para prevenir la saturación del dispositivo sensor de luz.

20

48. Sistema según la reivindicación 47, donde la lente colectora, el filtro y el dispositivo sensor de luz están integrados en un único dispositivo.

49. Sistema adaptable para su inserción en el tren óptico de un microscopio óptico, configurado para atrapar con un único haz de luz una partícula suspendida en un medio de suspensión entre la cara de entrada y la cara de salida de una cámara, comprendiendo el sistema:

una única lente o sistema de lentes colectoras que se emplaza en o cerca de la cara de salida de la cámara de suspensión para capturar en la semiesfera superior de la partícula tanto los fotones deflectados como no deflectados por la partícula, siendo la apertura numérica de la lente colectora mayor o igual que el índice de refracción del medio de suspensión destinado a suspender la partícula en la cámara,
30 un dispositivo sensor de luz posicionado en o cerca del plano focal trasero de la lente colectora, siendo el dispositivo sensor capaz, directa o indirectamente, de producir medidas de la fuerza óptica que actúa sobre la

partícula, derivadas de las coordenadas x e y del centro de masas de la distribución de luz proyectada sobre el dispositivo sensor de luz; y una máscara que, actuando por transmisión, y colocada cerca o pegada al dispositivo sensor de luz, compensa las pérdidas por reflexión producidas en la cámara.

5 50. Sistema según la reivindicación 49, donde la lente colectora, la máscara que actúa por transmisión y el dispositivo sensor de luz están integrados en un único dispositivo.

10 51. Sistema adaptable para su inserción en el tren óptico de un microscopio óptico, configurado para atrapar con un único haz de luz una partícula suspendida en un medio de suspensión entre la cara de entrada y la cara de salida de una cámara, comprendiendo el sistema:

15 una única lente o sistema de lentes colectoras que se emplaza en o cerca de la cara de salida de la cámara de suspensión para capturar en la semiesfera superior de la partícula tanto los fotones deflectados como no deflectados por la partícula, siendo la apertura numérica de la lente colectora mayor o igual que el índice de refracción del medio de suspensión destinado a suspender la partícula en la cámara,

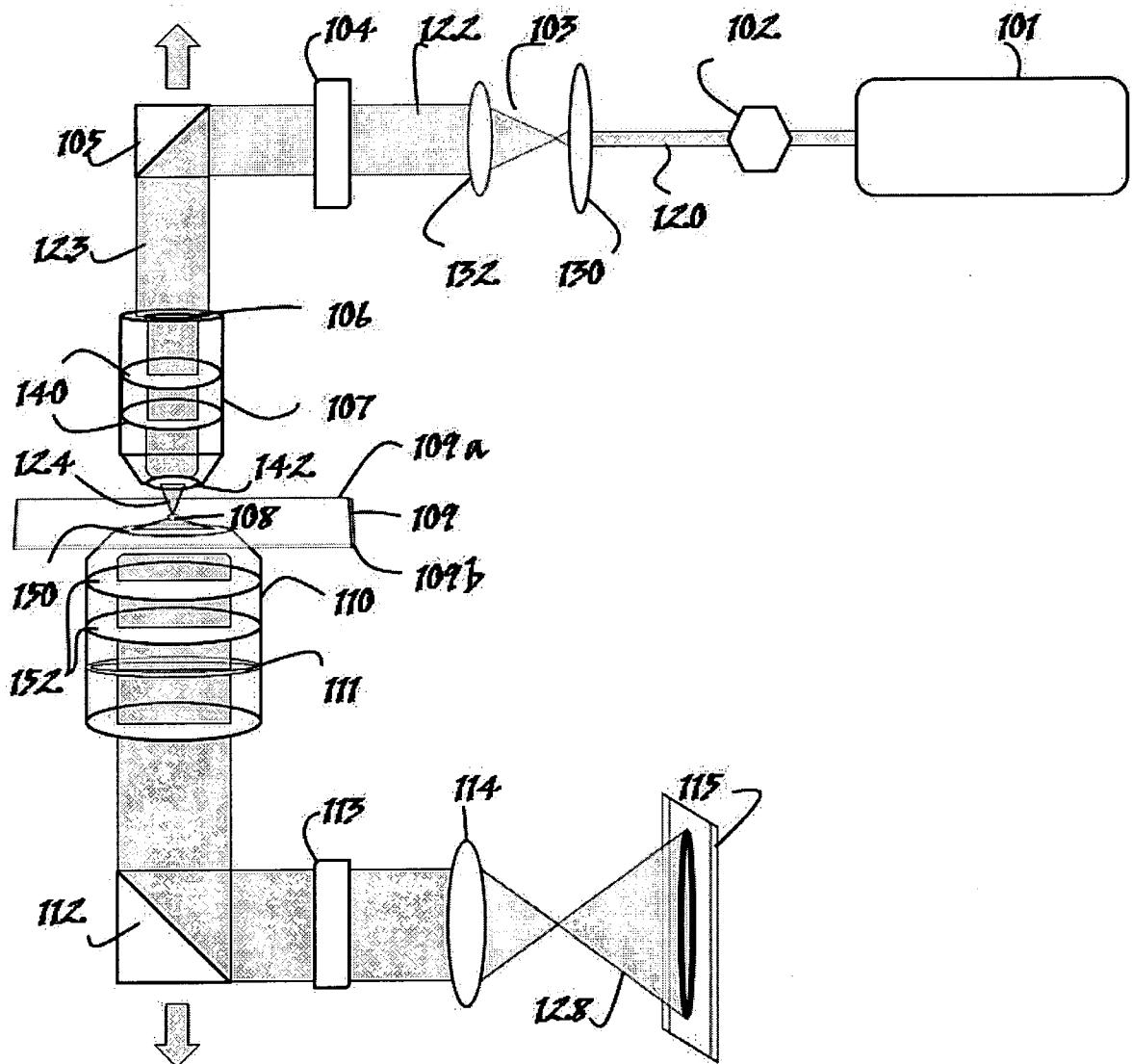
20 un dispositivo sensor de luz posicionado en o cerca del plano focal trasero de la lente colectora, siendo el dispositivo sensor capaz, directa o indirectamente, de producir medidas de la fuerza óptica que actúa sobre la

25 partícula, derivadas de las coordenadas x e y del centro de masas de la distribución de luz proyectada sobre el dispositivo sensor de luz

un filtro posicionado entre la lente colectora y el dispositivo sensor de luz para prevenir la saturación del dispositivo sensor de luz; y

30 una máscara que, actuando por transmisión, y colocada cerca o pegada al dispositivo sensor de luz, compensa las pérdidas por reflexión producidas en la cámara.

35 52. Sistema según la reivindicación 51, donde la lente colectora, el filtro, la máscara que actúa por transmisión y el dispositivo sensor de luz están integrados en un único dispositivo.

100*Al tren de imagen**Al tren de iluminación**Figura 1*

2 / 16

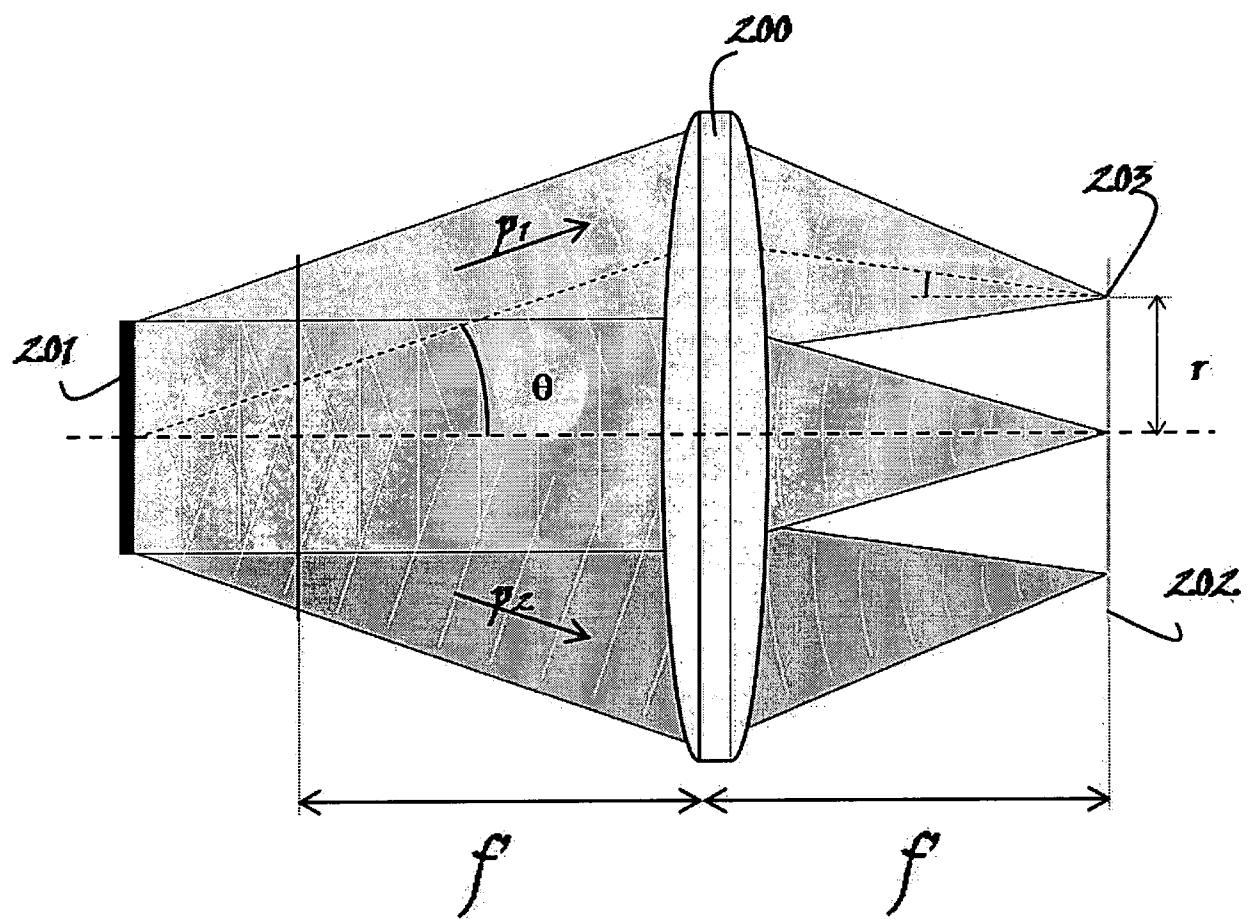


Figura 2.

3 / 16

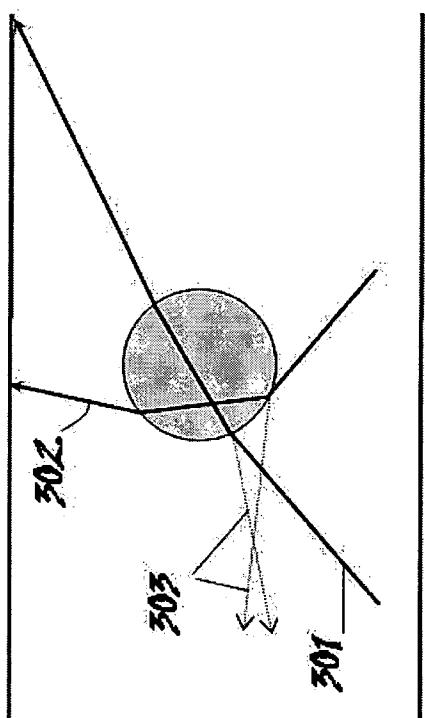


Figura 3B

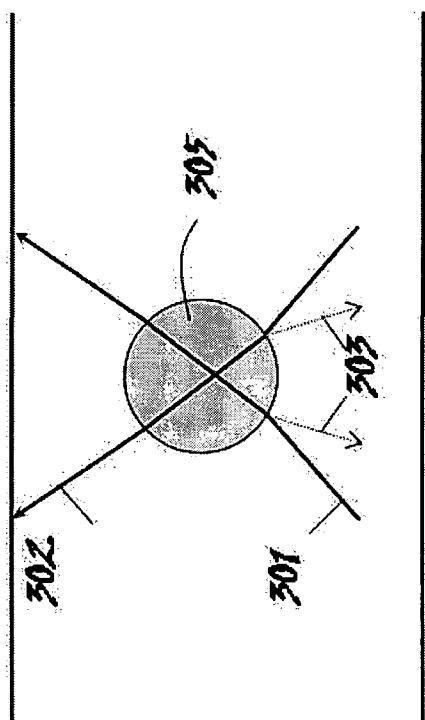


Figura 3A

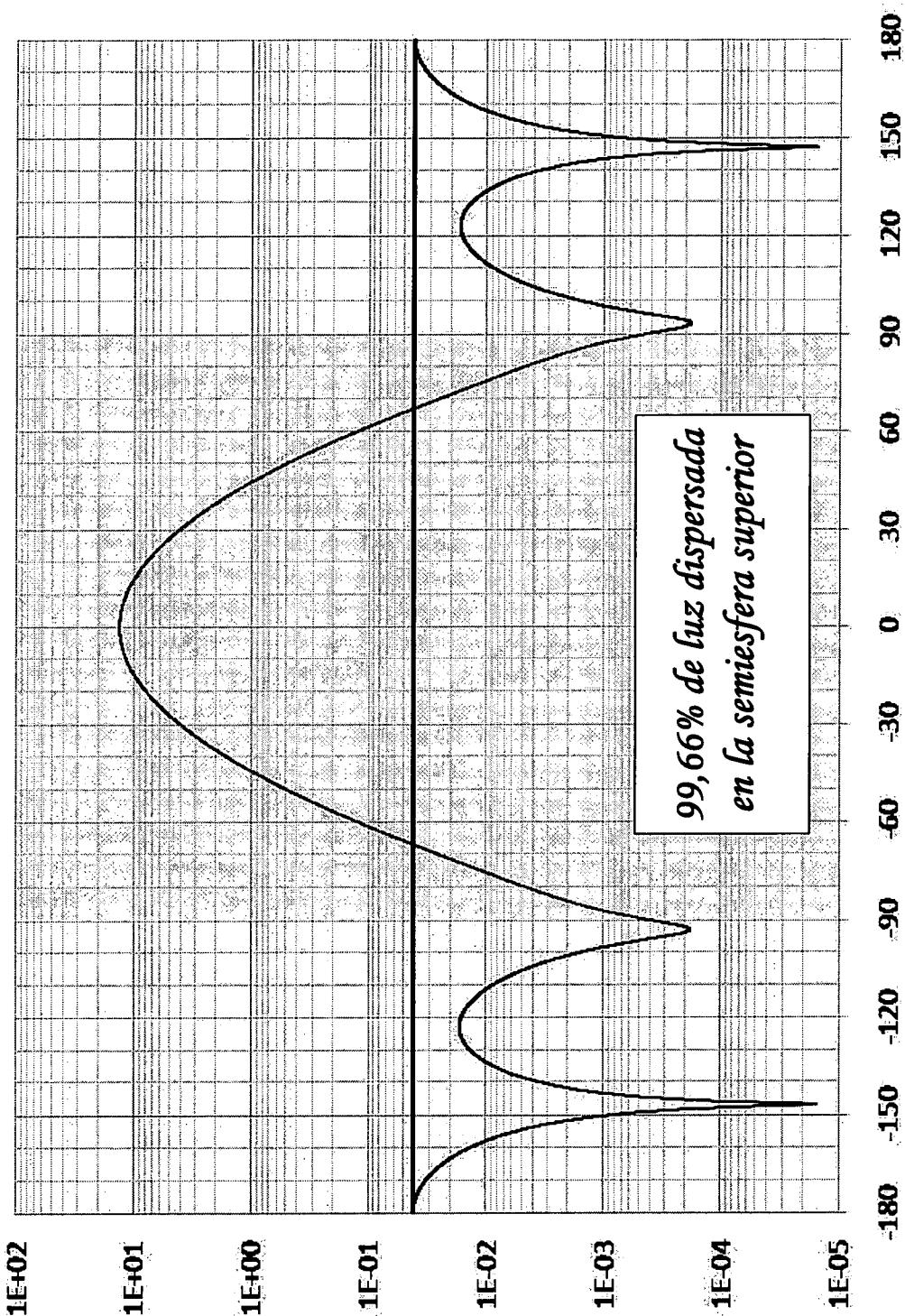
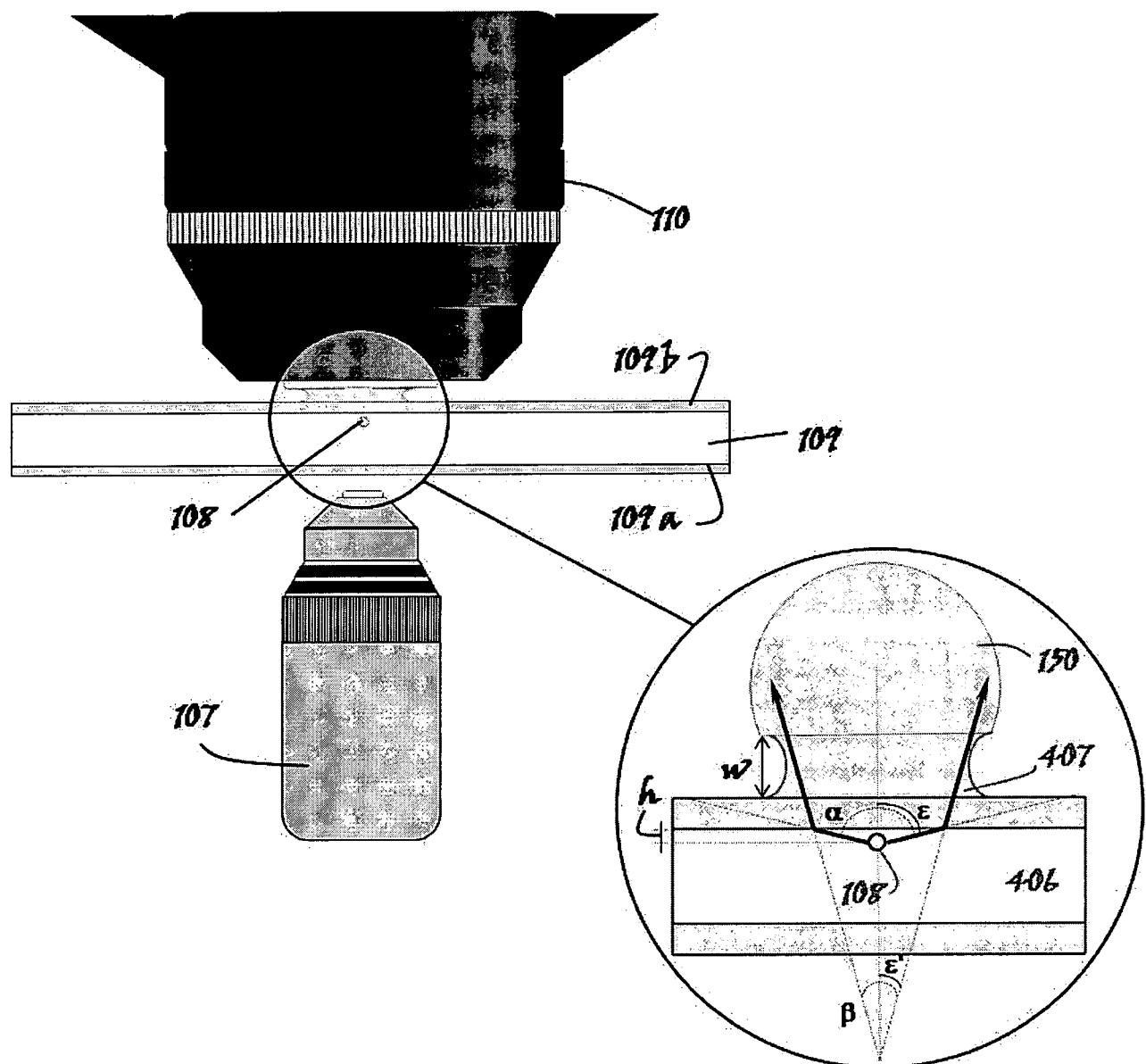


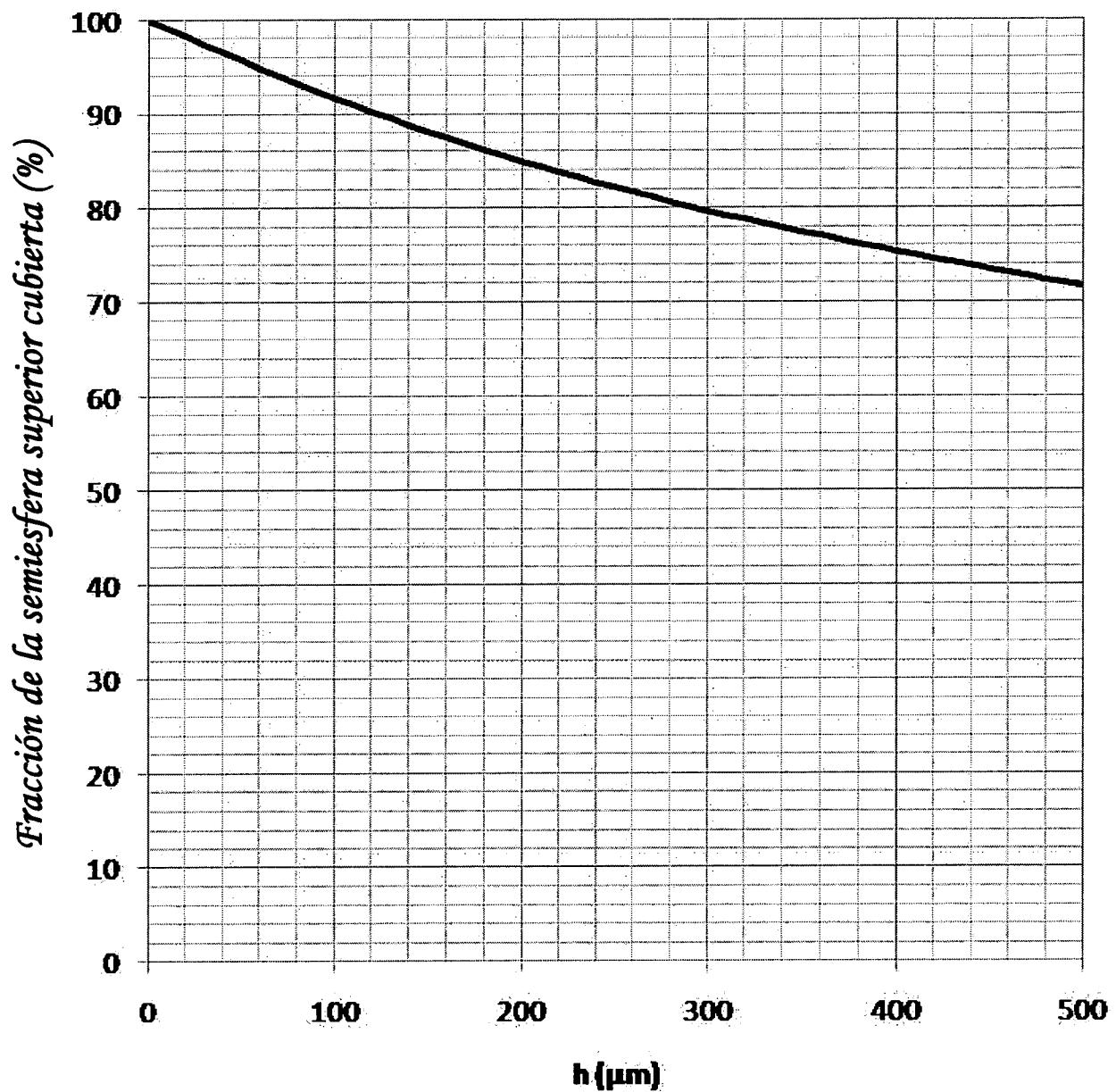
Figura 4

5 / 16



Figuras

6 / 16

*Figura 6*

7 / 16

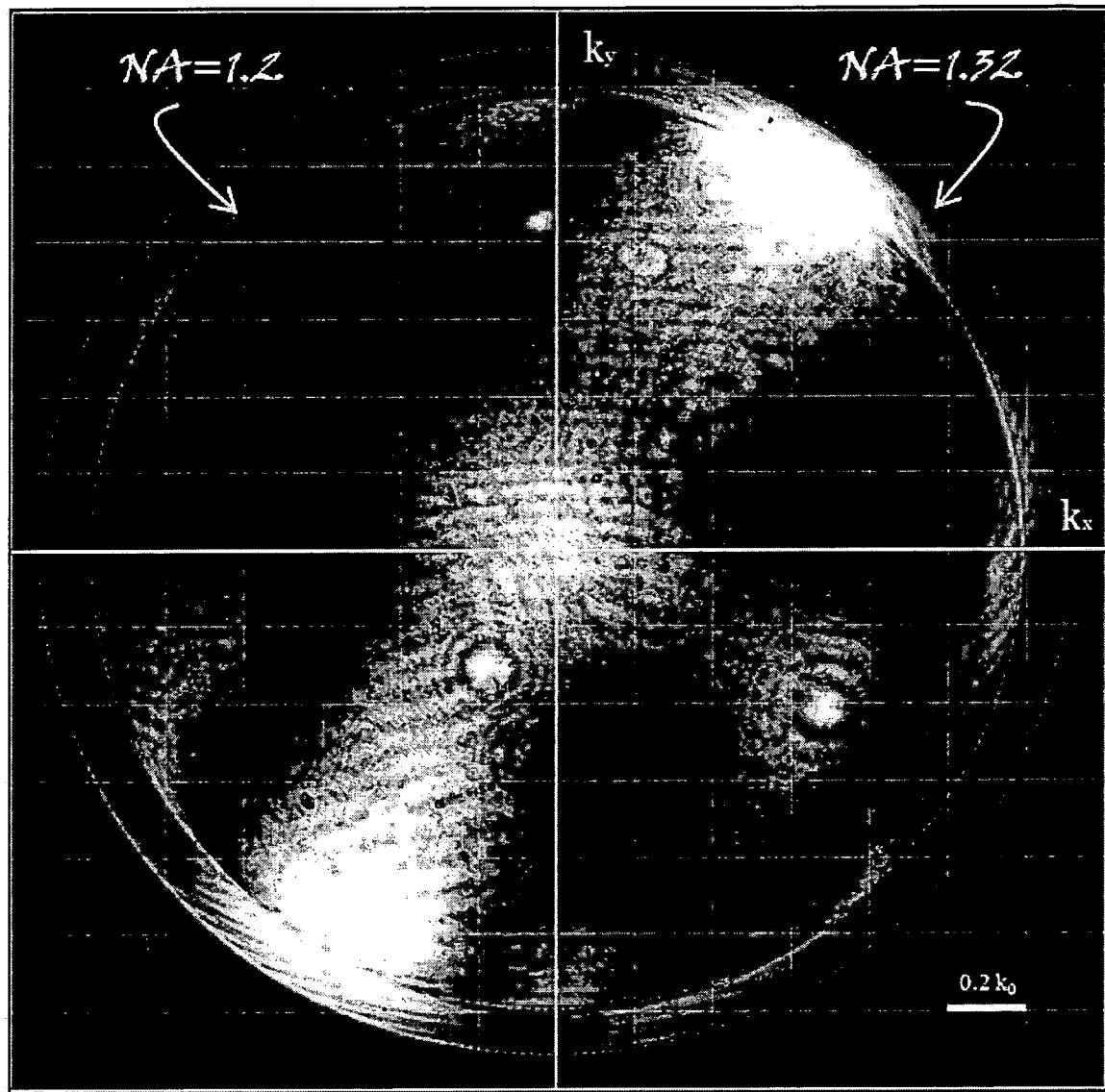


Figura 7

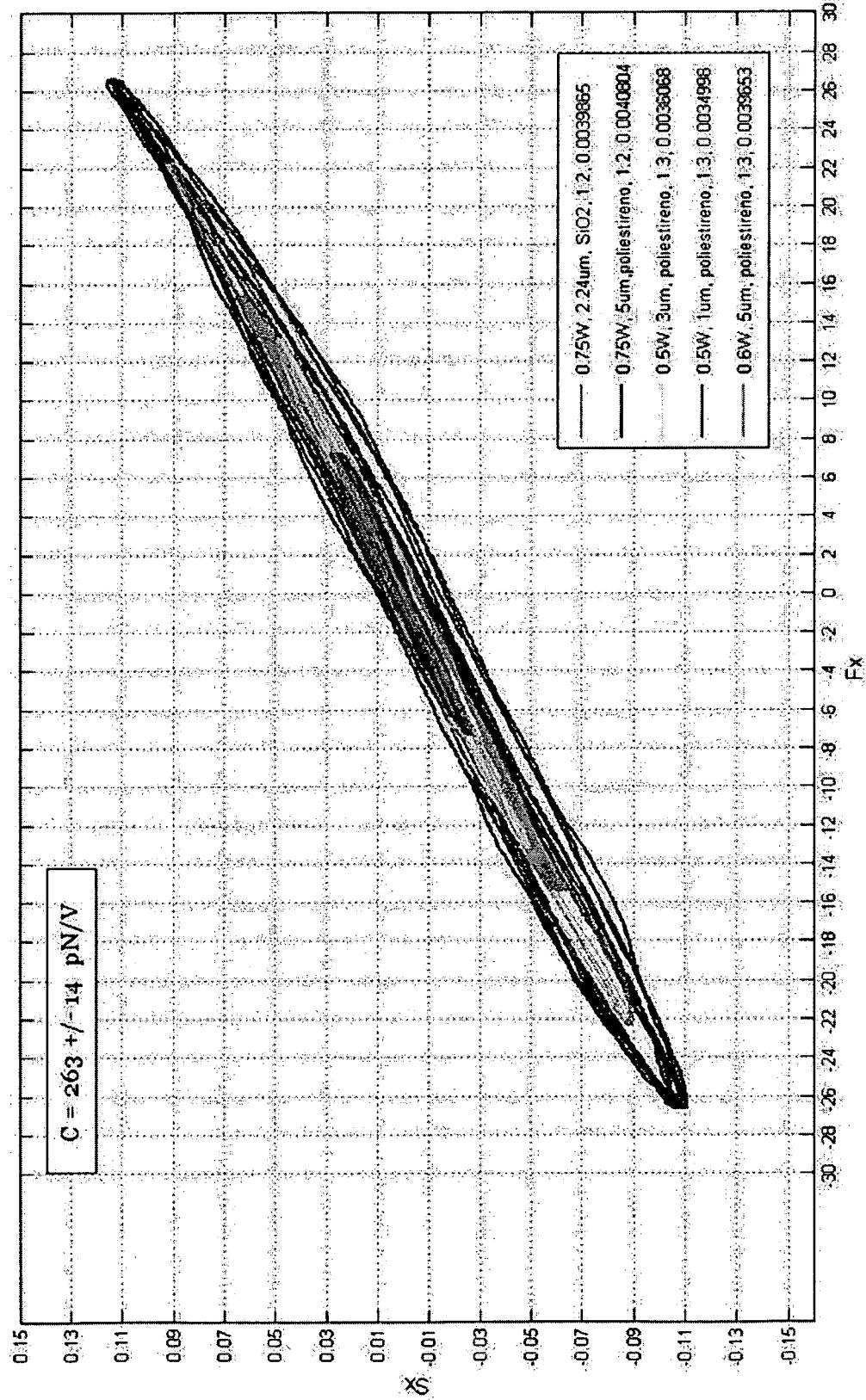


Figura 8

9 / 16

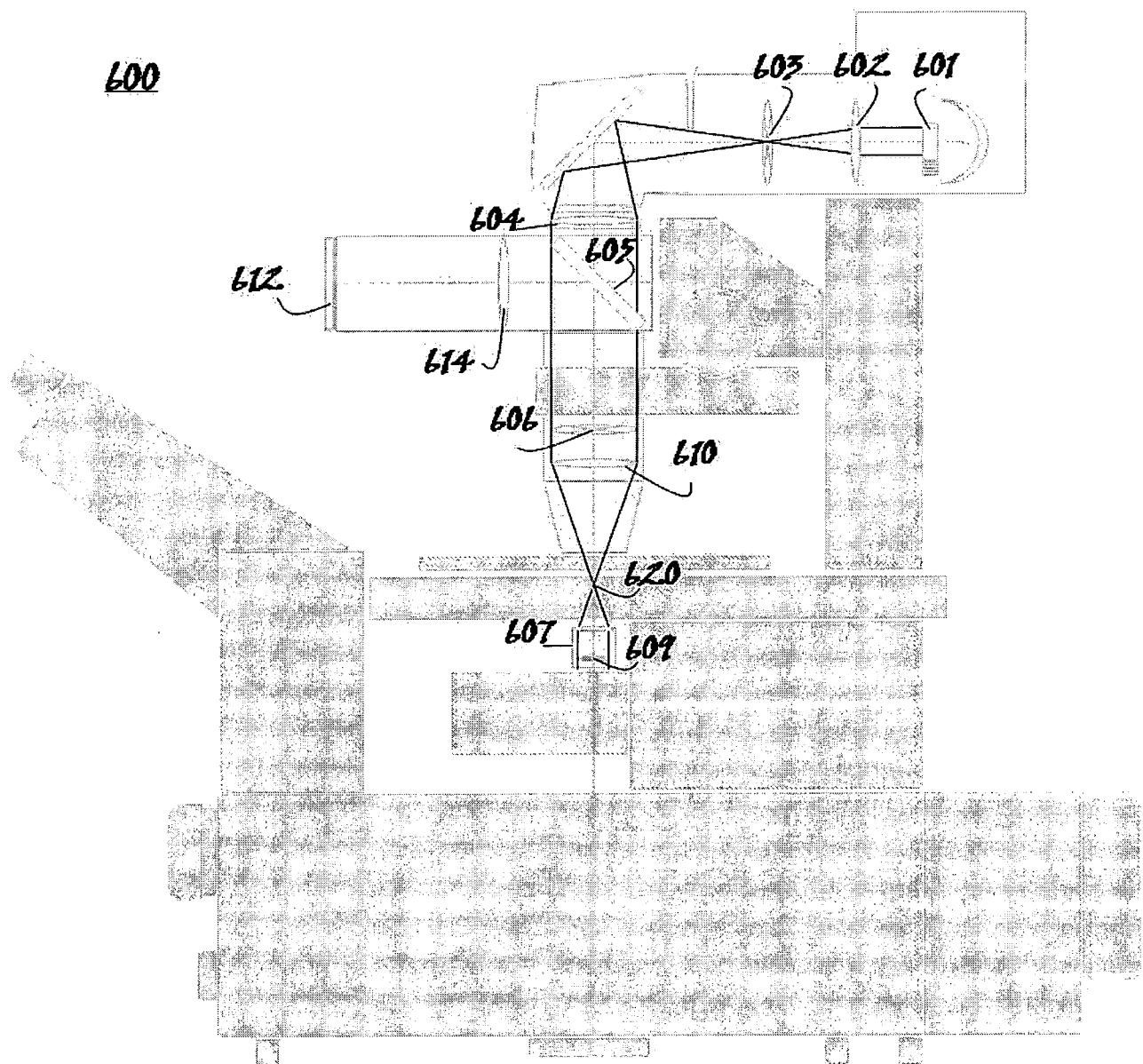


Figura 7.A

10 / 16

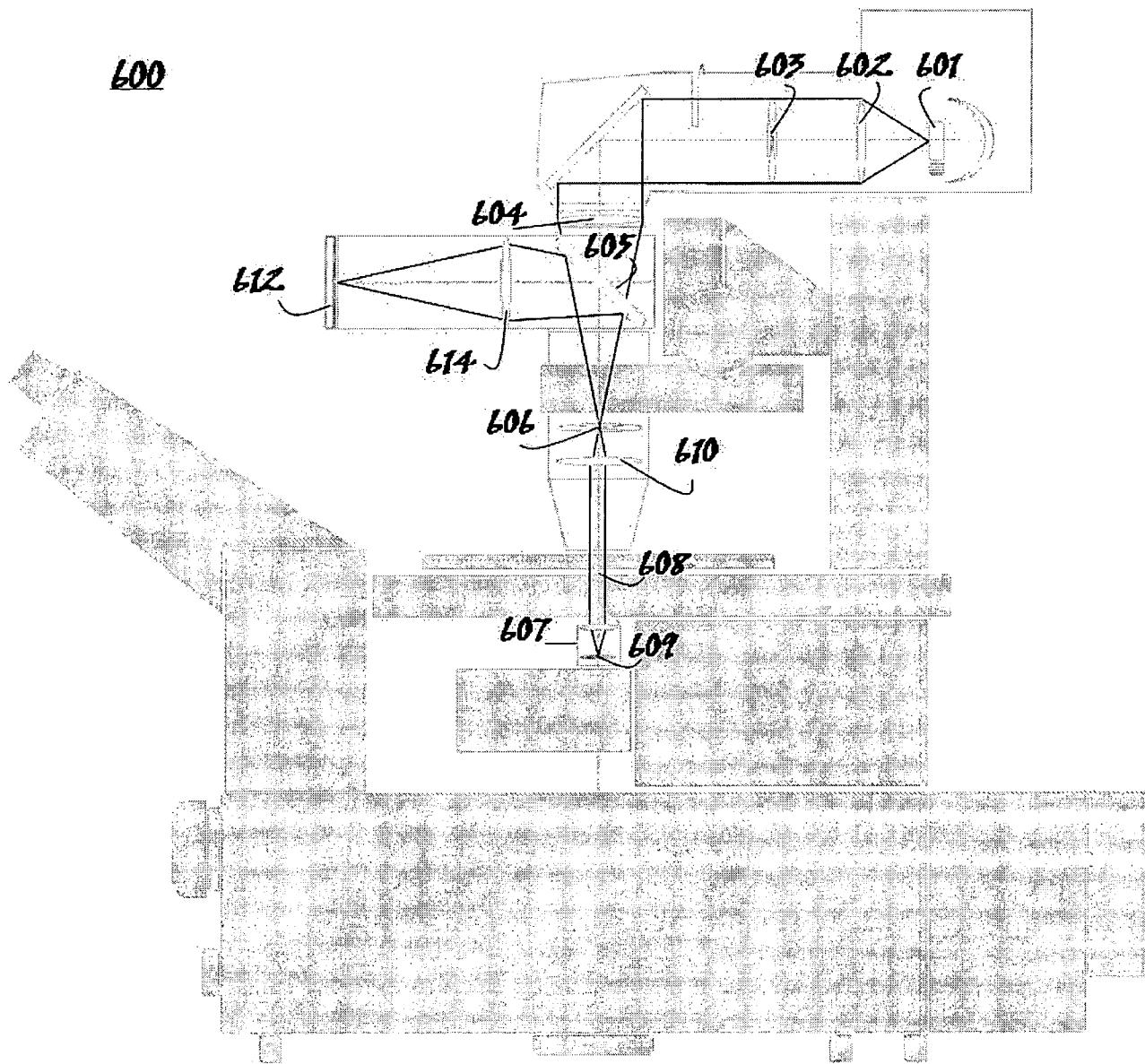


Figura 9B

11 / 16

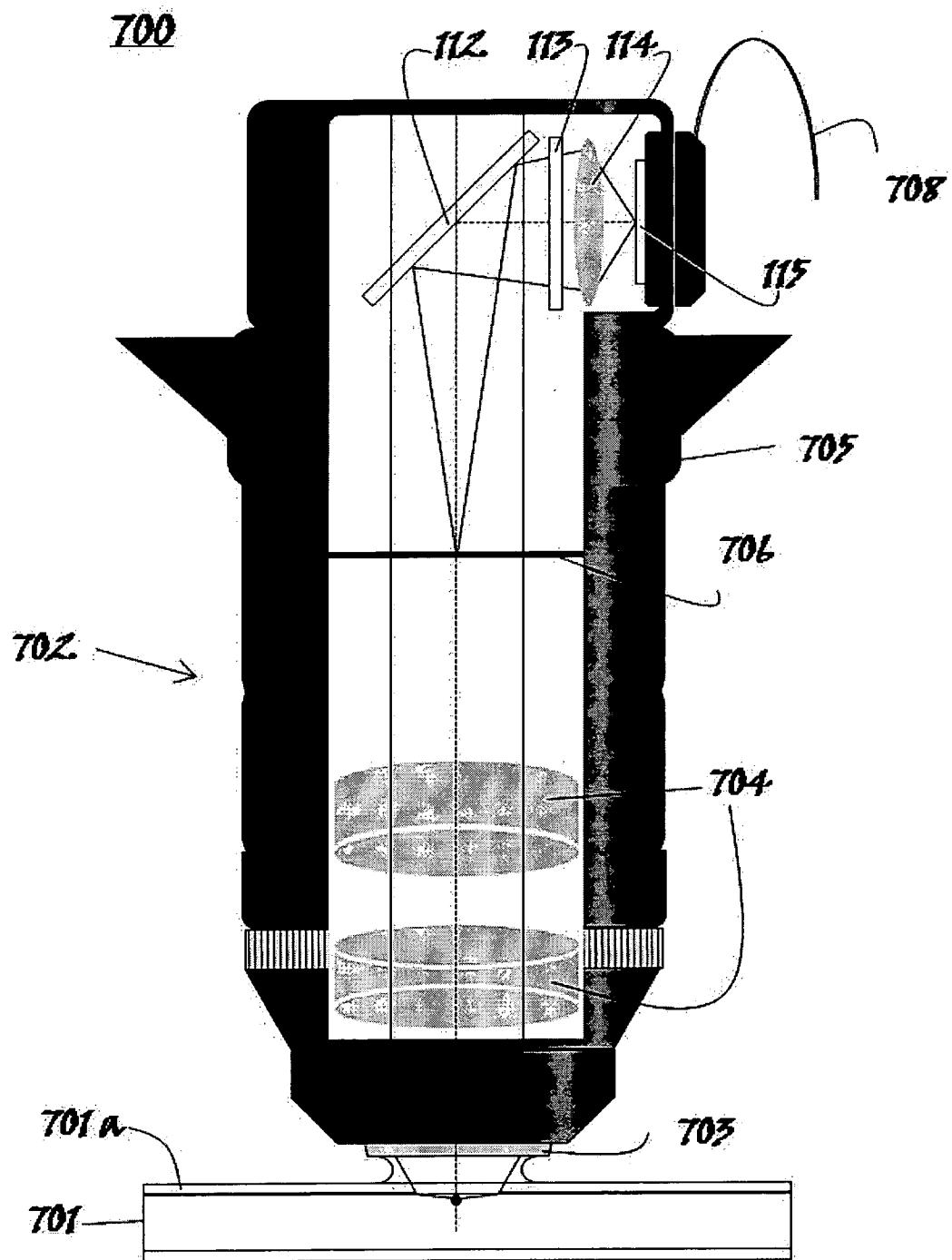
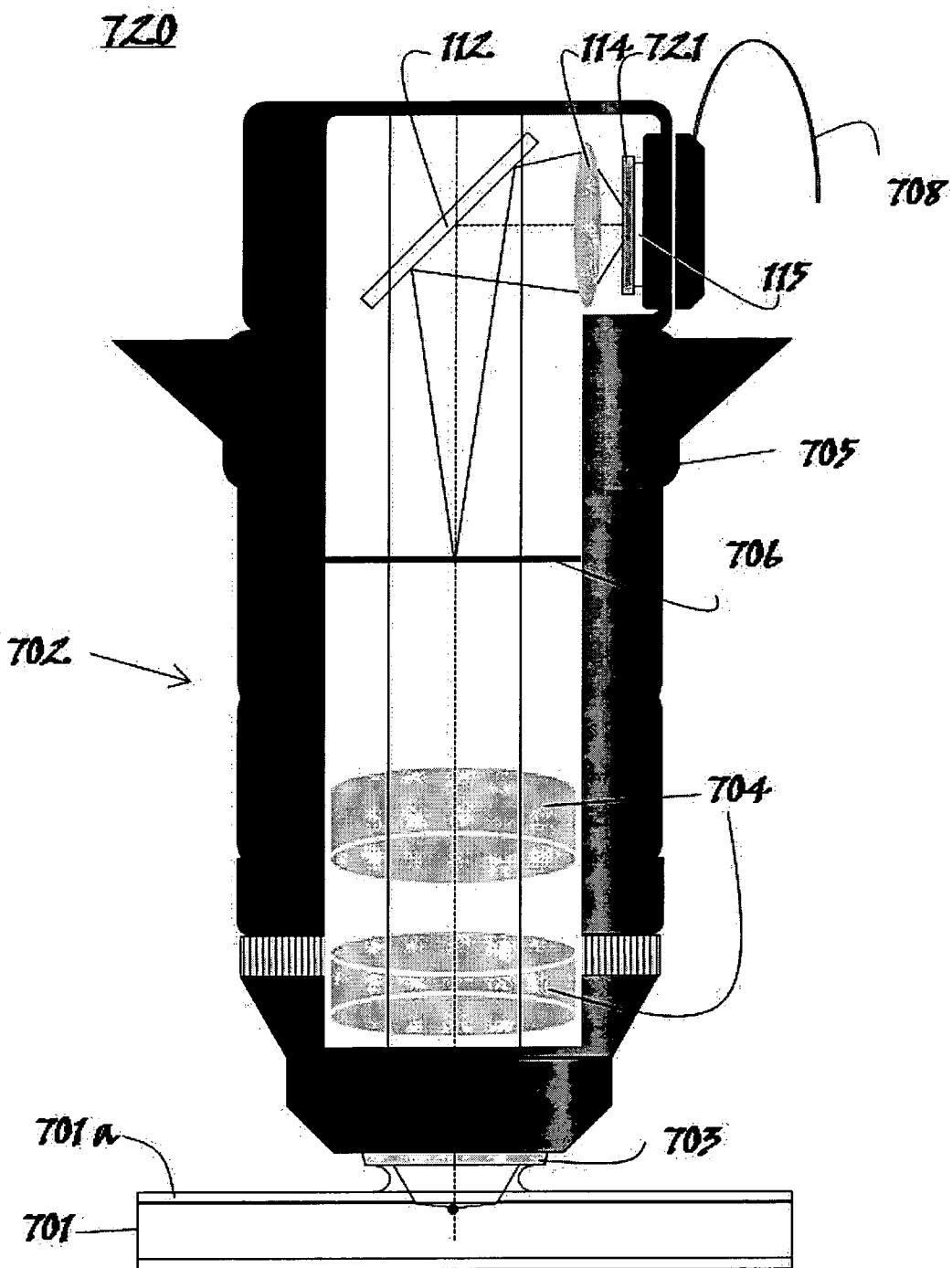


Figura 10

12 / 16

*Figura 11*

13 / 16

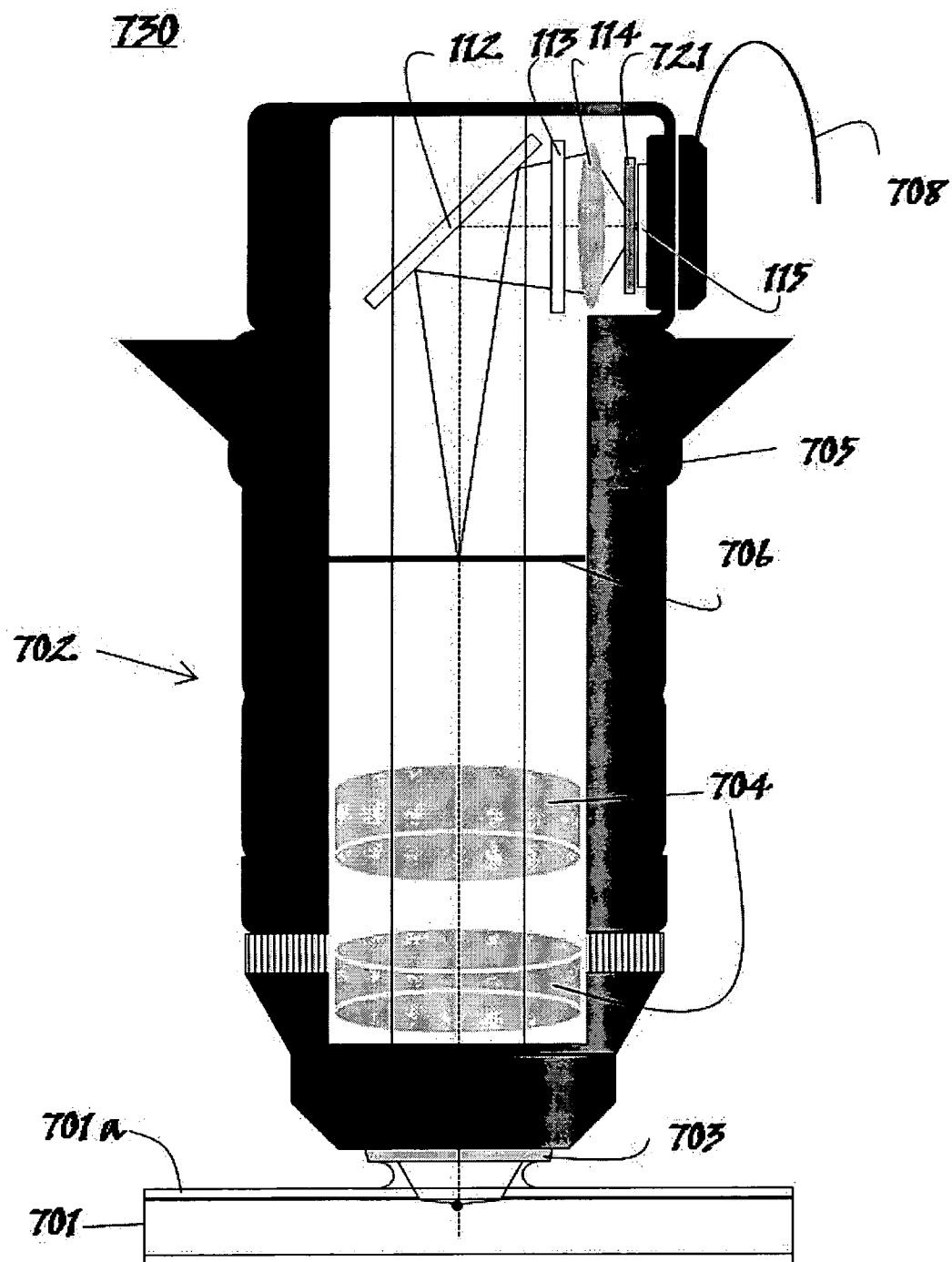
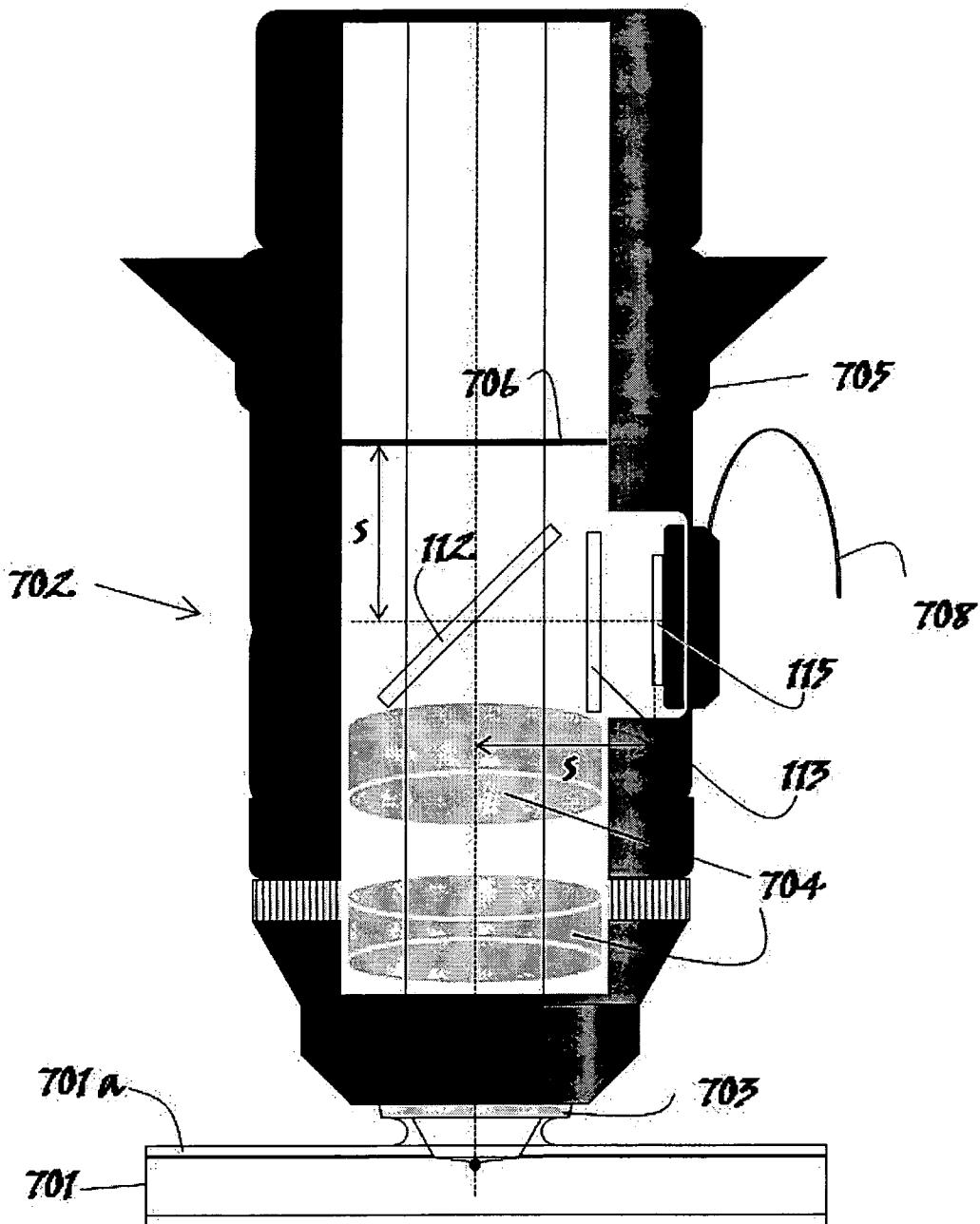


Figura 12

740*Figura 13*

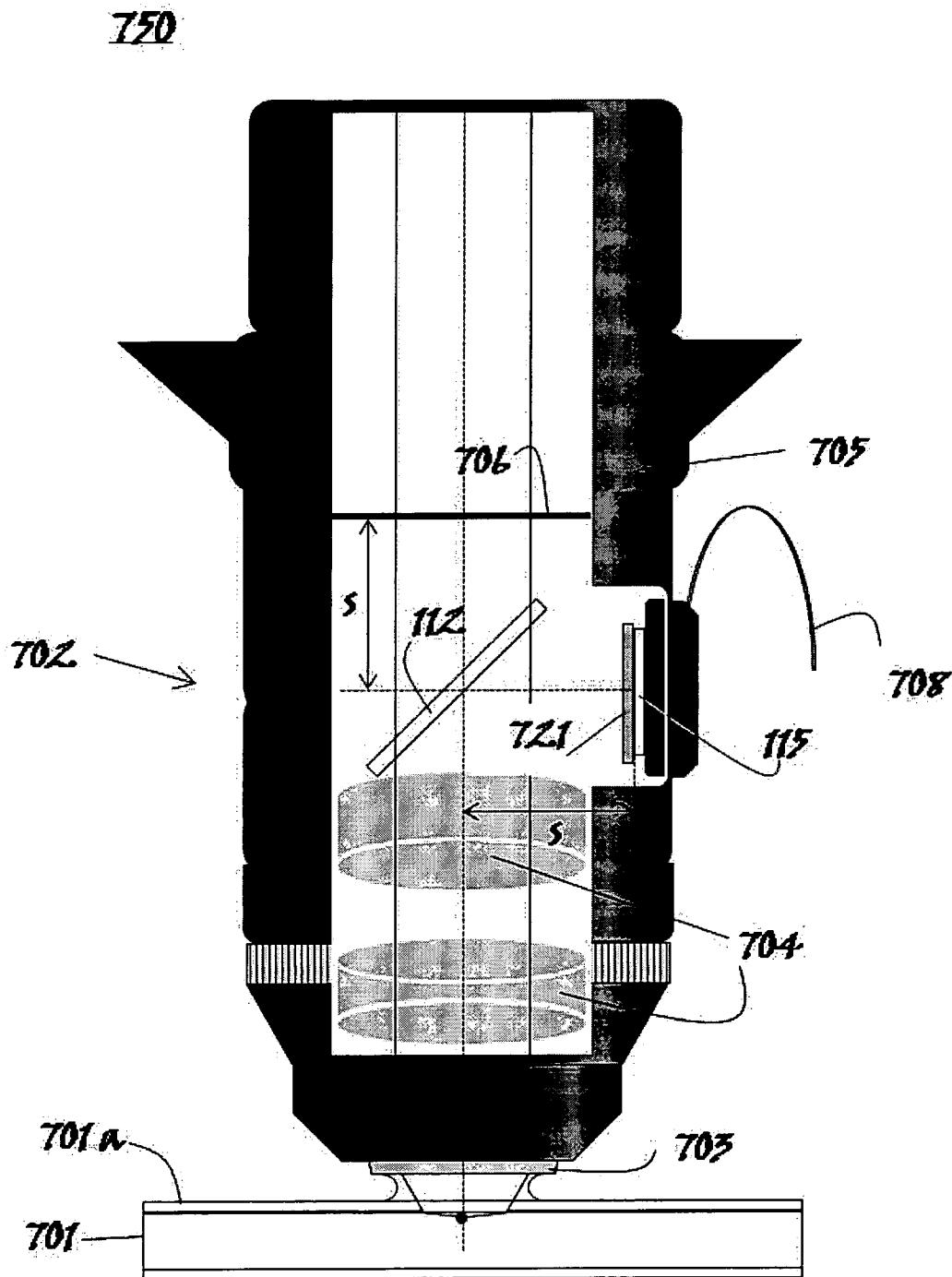


Figura 14

16 / 16

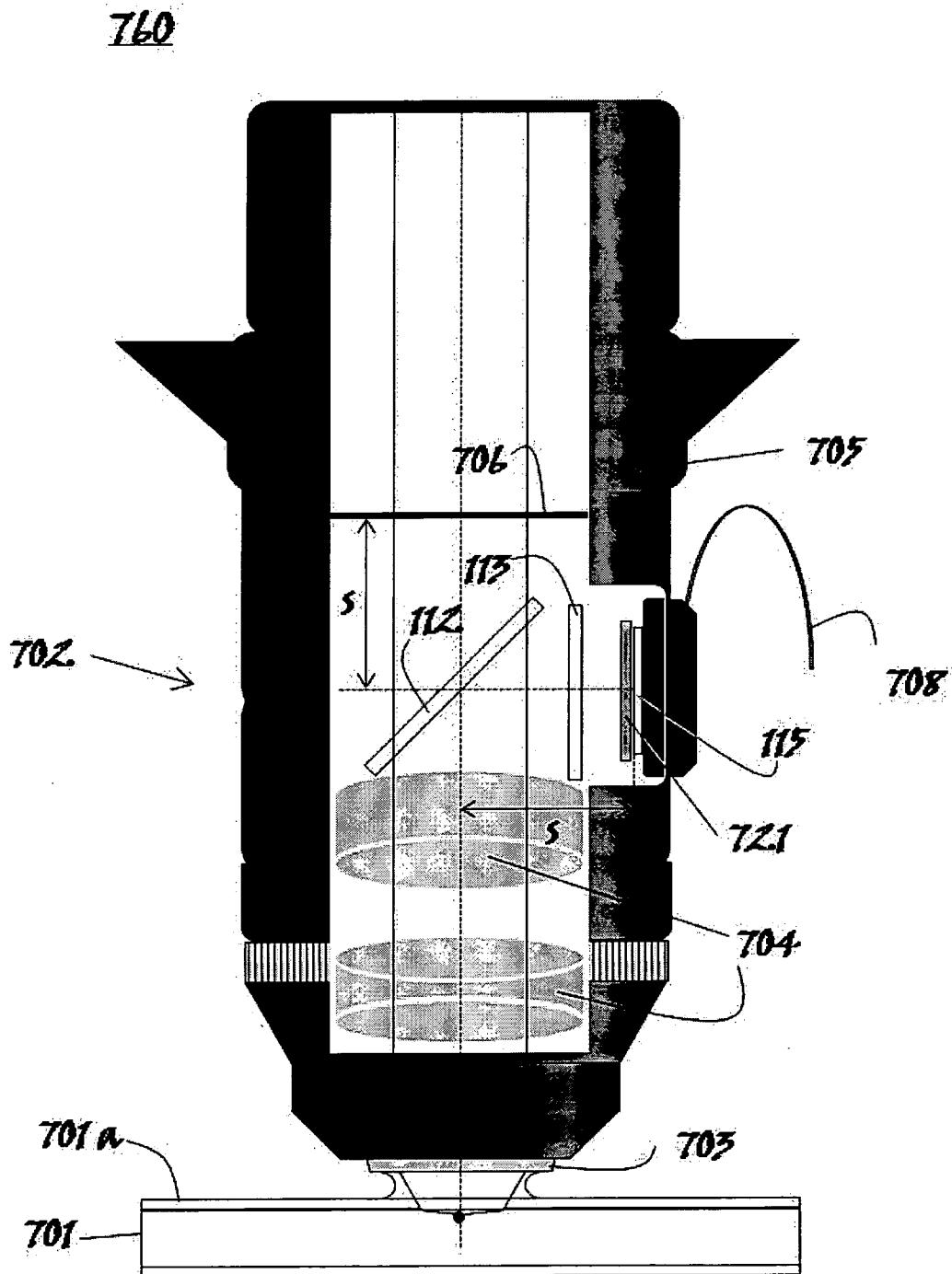


Figura 15

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ ES 2010/000210

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

see extra sheet

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G21K, G01L, G02B, G03H, G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

INVENES, EPODOC, WPI, INSPEC

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2008/127410 A2 (NEW YORK UNIVERSITY) 23.10.2008, abstract; paragraphs [0003], [0005], [0017], [0021], [0029]-[0031], [0033]-[0036], [0042], [0048]-[0051]; figures 1, 6-8 and 10.	1-6, 8, 10, 11, 14, 15, 17, 18, 21, 25-33, 37-39, 41, 42, 47, 48
X	US 2007/0069119 A1 (APPLEYARD, D. et al.) 29.03.2007, the whole document.	1, 2, 6, 8, 10, 17, 21, 25
A	US 2007/0254279 A1 (GOEL, A.) 01.11.2007, abstract; paragraphs [0045]-[0046], [0048], [0091]-[0095]; figures 5A and 5B.	1-4, 6, 7, 17, 18, 25-30, 33, 35
A	EP 0455125 A2 (CANON KABUSHIKI KAISHA) 06.11.1991.	-

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T"	later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance.		
"E" earlier document but published on or after the international filing date		
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"X"	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"O" document referring to an oral disclosure use, exhibition, or other means	"Y"	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"&"	document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

31.August.2010 (31.08.2010)

Date of mailing of the international search report

(06/09/2010)

Name and mailing address of the ISA/
O.E.P.M.

Paseo de la Castellana, 75 28071 Madrid, España.
Facsimile No. +34 91 3495304

Authorized officer

O. González Peñalba

Telephone No. +34 91 349 54 75

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.

PCT/ ES 2010/000210

Patent document cited in the search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2008127410 A	23.10.2008	US 2008121790 A	29.05.2008
US 2007069119 A	29.03.2007	US 7745788 B WO 2007038259 A	29.06.2010 05.04.2007
US 2007254279 A	01.11.2007	WO 2007124105 A CA 2646309 A EP 2016415 A EP 20070775933 CN 101479605 A JP 2009534033 T	01.11.2007 01.11.2007 21.01.2009 23.04.2007 08.07.2009 24.09.2009
EP 0455125 AB	06.11.1991	EP 19910106608 JP 4006465 A JP 2675895 B JP 4036637 A JP 4066873 A US 5198369 A DE 69117572 T	24.04.1991 10.01.1992 12.11.1997 06.02.1992 03.03.1992 30.03.1993 26.09.1996

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ ES 2010/000210

CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G21K 1/06 (2006.01)

G01L 1/25 (2006.01)

G02B 21/32 (2006.01)

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional N°

PCT/ ES 2010/000210

A. CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

Ver hoja adicional

De acuerdo con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP) o según la clasificación nacional y CIP.

B. SECTORES COMPRENDIDOS POR LA BÚSQUEDA

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

G21K, G01L, G02B, G03H, G01N

Otra documentación consultada, además de la documentación mínima, en la medida en que tales documentos formen parte de los sectores comprendidos por la búsqueda

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, INSPEC

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría*	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones N°
X	WO 2008/127410 A2 (NEW YORK UNIVERSITY) 23.10.2008, resumen; párrafos [0003], [0005], [0017], [0021], [0029]-[0031], [0033]-[0036], [0042], [0048]-[0051]; figuras 1, 6-8 y 10.	1-6, 8, 10, 11, 14, 15, 17, 18, 21, 25-33, 37-39, 41, 42, 47, 48
X	US 2007/0069119 A1 (APPLEYARD, D. et al.) 29.03.2007, todo el documento.	1, 2, 6, 8, 10, 17, 21, 25
A	US 2007/0254279 A1 (GOEL, A.) 01.11.2007, resumen; párrafos [0045]-[0046], [0048], [0091]-[0095]; figuras 5A y 5B.	1-4, 6, 7, 17, 18, 25-30, 33, 35
A	EP 0455125 A2 (CANON KABUSHIKI KAISHA) 06.11.1991.	-

En la continuación del Recuadro C se relacionan otros documentos

Los documentos de familias de patentes se indican en el Anexo

* Categorías especiales de documentos citados:	"T"	documento ulterior publicado con posterioridad a la fecha de presentación internacional o de prioridad que no pertenece al estado de la técnica pertinente pero que se cita por permitir la comprensión del principio o teoría que constituye la base de la invención.
"A" documento que define el estado general de la técnica no considerado como particularmente relevante.		
"E" solicitud de patente o patente anterior pero publicada en la fecha de presentación internacional o en fecha posterior.		
"L" documento que puede plantear dudas sobre una reivindicación de prioridad o que se cita para determinar la fecha de publicación de otra cita o por una razón especial (como la indicada).	"X"	documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o que implique una actividad inventiva por referencia al documento aisladamente considerado.
"O" documento que se refiere a una divulgación oral, a una utilización, a una exposición o a cualquier otro medio.	"Y"	documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse que implique una actividad inventiva cuando el documento se asocia a otro u otros documentos de la misma naturaleza, cuya combinación resulta evidente para un experto en la materia.
"P" documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada.	"&"	documento que forma parte de la misma familia de patentes.

Fecha en que se ha concluido efectivamente la búsqueda internacional. 31.Agosto.2010 (31.08.2010)	Fecha de expedición del informe de búsqueda internacional 06 septiembre de 2010 (06/09/2010)
Nombre y dirección postal de la Administración encargada de la búsqueda internacional O.E.P.M. Paseo de la Castellana, 75 28071 Madrid, España. Nº de fax 34 91 3495304	Funcionario autorizado O. González Peñalba Nº de teléfono +34 91 349 54 75

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Información relativa a miembros de familias de patentes

Solicitud internacional N°

PCT/ES 2010/000210

Documento de patente citado en el informe de búsqueda	Fecha de Publicación	Miembro(s) de la familia de patentes	Fecha de Publicación
WO 2008127410 A	23.10.2008	US 2008121790 A	29.05.2008
US 2007069119 A	29.03.2007	US 7745788 B WO 2007038259 A	29.06.2010 05.04.2007
US 2007254279 A	01.11.2007	WO 2007124105 A CA 2646309 A EP 2016415 A EP 20070775933 CN 101479605 A JP 2009534033 T	01.11.2007 01.11.2007 21.01.2009 23.04.2007 08.07.2009 24.09.2009
EP 0455125 AB	06.11.1991	EP 19910106608 JP 4006465 A JP 2675895 B JP 4036637 A JP 4066873 A US 5198369 A DE 69117572 T	24.04.1991 10.01.1992 12.11.1997 06.02.1992 03.03.1992 30.03.1993 26.09.1996

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional N°

PCT/ ES 2010/000210

CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

G21K 1/06 (2006.01)

G01L 1/25 (2006.01)

G02B 21/32 (2006.01)